

UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO

División Académica de Ciencias de la Salud



“Caracterización de almidón y harina de banano: efectos sobre la respuesta metabólica y el apetito en la obesidad”

**Tesis para obtener el Grado de:
Doctor en Ciencias Biomédicas**

**Presenta:
Carlos García Vázquez**

**Directores:
Dr. Jorge Luis Ble Castillo
Dra. Carina Shianya Álvarez Villagómez**

Villahermosa, Tabasco.

Junio 2021



Of. No. 0393/DACS/JAEP
22 de marzo de 2021

ASUNTO: Autorización impresión de tesis

C. Carlos García Vázquez

Doctorado en Ciencias Biomédicas

Presente

Comunico a Usted, que ha sido autorizada por el Comité Sinodal, integrado por los profesores investigadores, Dr. Carlos Alfonso Tovilla Zárata, Dra. Carina Shianya Álvarez Villagómez, Dra. Viridiana Olvera Hernández, Dr. Jorge Luis Ble Castillo, Dra. Isela Esther Juárez Rojop, Dra. Cristell Guadalupe Guzmán Priego y el Dr. Francisco Javier Ochoa Dorles impresión de la tesis titulada: "**Caracterización de almidón y harina de banano: efectos sobre la respuesta metabólica y el apetito en la obesidad**", para sustento de su trabajo recepcional del Doctorado en Ciencias Biomédicas, donde funge como Directoras de Tesis el Dr. Jorge Luis Ble Castillo y la Dra. Carina Shianya Álvarez Villagómez.

A t e n t a m e n t e

Dra. Mirian Carolina Martínez López

Directora

UJAT
DACS
DIRECCIÓN

- C.c.p.- Dr. Jorge Luis Ble Castillo.- Directora de tesis
- C.c.p.- Dra. Carina Shianya Álvarez Villagómez.- Directora de tesis
- C.c.p.- Dr. Carlos Alfonso Tovilla Zárata.- sinodal
- C.c.p.- Dra. Carina Shianya Álvarez Villagómez.- Sinodal
- c.c.p.- Dra. Viridiana Olvera Hernández.- Sinodal
- C.c.p.- Dr. Jorge Luis Ble Castillo.- Sinodal
- C.c.p.- Dra. Isela Esther Juárez Rojop.- Sinodal
- C.c.p.- Dra. Cristell Guadalupe Guzmán Priego.- Sinodal
- C.c.p.- Dr. Francisco Javier Ochoa Dorles.- Sinodal

C.c.p.- Archivo
DC'MCML/MCE'XME/mgcc*



ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la ciudad de Villahermosa Tabasco, siendo las 12:00 horas del día 22 del mes de marzo de 2021 se reunieron los miembros del Comité Sinodal (Art. 71 Núm. III Reglamento General de Estudios de Posgrado vigente) de la División Académica de Ciencias de la Salud para examinar la tesis de grado titulada:

"Caracterización de almidón y harina de banano: efectos sobre la respuesta metabólica y el apetito en la obesidad"

Presentada por el alumno (a):

García Vázquez Carlos
Apellido Paterno Materno Nombre (s)

Con Matricula

1 8 1 E 6 2 0 0 2

Aspirante al Diploma de:

Doctorado en Ciencias Biomédicas

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

COMITÉ SINODAL

Dr. Jorge Luis Ble Castillo
Dra. Carina Shianya Álvarez Villagómez
Directores de Tesis

Dr. Carlos Alfonso Tovilla Zárate

Dra. Carina Shianya Álvarez Villagómez

Dra. Viridiana Olvera Hernández

Dr. Jorge Luis Ble Castillo

Dra. Isela Esther Juárez Rojop

Dra. Crystell Guadalupe Guzmán Priego

Dr. Francisco Javier Ochoa Dorles



**UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



División
Académica
de Ciencias de
la Salud

Jefatura del
Área de Estudios
de Posgrado



Carta de Cesión de Derechos

En la ciudad de Villahermosa Tabasco el día 23 del mes de marzo del año 2021, el que suscribe, **Carlos García Vázquez**, alumno del programa del **Doctorado en Ciencias Biomédicas**, con número de matrícula 181E62002 adscrito a la División Académica de Ciencias de la Salud, manifiesta que es autor intelectual del trabajo de tesis titulada: **"Caracterización de almidón y harina de banano: efectos sobre la respuesta metabólica y el apetito en la obesidad"**, bajo la Dirección del Dr. Jorge Luis Ble Castillo, Conforme al Reglamento del Sistema Bibliotecario Capítulo VI Artículo 31. El alumno cede los derechos del trabajo a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficos o datos del trabajo sin permiso expreso del autor y/o director del trabajo, el que puede ser obtenido a la dirección: gbasecs@hotmail.com. Si el permiso se otorga el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

Carlos García Vázquez

Nombre y Firma

DIVISIÓN ACADÉMICA DE
CIENCIAS DE LA SALUD



JEFATURA DEL ÁREA DE
ESTUDIOS DE POSGRADO

Sello



AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, mi alma máter, por formarme desde la licenciatura hasta este momento.

Al Dr. Jorge Luis Ble Castillo, por toda la paciencia conmigo a lo largo de casi 11 años.

A cada uno de los profesores investigadores que aportaron a mi formación.

Al Dr. Rodolfo Velázquez, por darnos todas las facilidades para iniciar con las primeras pruebas.

Al Dr. Josafat Hernández, por permitirnos realizar gran parte de las determinaciones en su laboratorio.

A cada uno de los voluntarios que participaron en este trabajo, ya que sin ellos no habría sido posible alcanzar las metas propuestas.



DEDICATORIAS

A mi padre, aunque ya no está, siempre me brindó su amor incondicional a pesar de la distancia y me enseñó el valor del esfuerzo y la dedicación.

A mi madre, porque a pesar de las dificultades a las que se enfrentó, nunca se dio por vencida y fue un ejemplo para mí

A Mez, mi todo, cada día me inspiras a ser mejor persona. Contigo todo y sin ti nada. Gracias por aparecer en mi vida.

Al Dr. Jorge Luis Ble Castillo, mi mentor, no solo me enseñó sobre ciencia sino de otros aspectos que me formaron como un futuro investigador.

A mis amigos, quienes han estado conmigo en las buenas y en las malas.



ÍNDICE

TABLAS Y FIGURAS	I
RESUMEN	IV
ABSTRACT.....	V
GLOSARIO	II
ABREVIATURAS	III
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 SOBREPESO Y OBESIDAD	1
1.2 ALMIDÓN.....	4
1.3 EFECTOS FISIOLÓGICOS DEL ALMIDÓN RESISTENTE	8
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	11
3. JUSTIFICACIÓN.....	13
4. OBJETIVOS.....	14
4.1. GENERAL:.....	14
4.2. ESPECÍFICOS:	14
5. MATERIAL Y MÉTODOS	15
5.1. INSTITUCIONES PARTICIPANTES	15
5.2. ESTANDARIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE ALMIDÓN Y HARINA DE BANANO.....	15
5.2.1. EXTRACCIÓN DE ALMIDÓN NATIVO DE BANANO	16
5.2.2. EXTRACCIÓN DE HARINA DE BANANO	17
5.3. CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA	18
5.3.1. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD, CENIZAS, GRASAS Y PROTEÍNAS	18
5.3.2. CONTENIDO DE ALMIDÓN DIGERIBLE, ALMIDÓN RESISTENTE Y ALMIDÓN TOTAL.....	22
5.3.3. ANÁLISIS DE LA MORFOLOGÍA DEL GRÁNULO.....	24
5.3.4. CRISTALINIDAD RELATIVA	25
5.4. PROPIEDADES FUNCIONALES	26
5.4.1. SOLUBILIDAD Y PODER DE HINCHAMIENTO	26
5.4.2. ABSORCIÓN DE AGUA	27
5.5. EFECTOS DEL CONSUMO AGUDO DE AR SOBRE LA RESPUESTA GLUCÉMICA POSTPRANDIAL EN ROEDORES	28
5.5.1. DISEÑO Y SITIO DE EXPERIMENTACIÓN ANIMAL.....	28
5.5.2. EFECTO DEL ALMIDÓN RESISTENTE CON CARGA DE GLUCOSA	28



5.5.3 EFECTO DEL ALMIDÓN RESISTENTE SIN CARGA DE GLUCOSA.....	30
5.6. EFECTOS DEL CONSUMO AGUDO DE AR SOBRE LA RESPUESTA METABÓLICA Y EL APETITO EN SUJETOS CON SOBREPESO U OBESIDAD. ..	32
5.6.1. TIPO DE ESTUDIO	32
5.6.2. PARTICIPANTES	33
5.6.3. DISEÑO Y DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO.....	34
5.6.4. TRATAMIENTOS	36
5.6.5. EVALUACIÓN DEL APETITO	37
5.6.6. DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS	38
5.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	39
5.8. ASPECTOS ÉTICOS	39
6. RESULTADOS.....	41
6.1. EXTRACCIÓN DE ALMIDÓN NATIVO Y HARINA DE BANANO (<i>MUSA CAVENDISH AAA</i>).	41
6.2. CARACTERIZACIÓN NUTRICIONAL.....	41
6.3. MORFOLOGÍA DEL GRÁNULO	42
6.4 PATRONES DE DIFRACCIÓN DE RAYOS X.....	44
6.5 PROPIEDADES FUNCIONALES	44
6.6. DIGESTIBILIDAD IN VITRO DEL ALMIDÓN	46
6.7. EFECTOS DEL CONSUMO AGUDO DE AR EN ROEDORES.....	48
6.8. EFECTO DEL CONSUMO AGUDO DE AR EN HUMANOS	52
6.8.1. CARACTERÍSTICAS DE LOS PARTICIPANTES	52
6.8.2 RESPUESTAS POSTPRANDIALES.....	53
7. DISCUSIÓN	58
8. CONCLUSIONES	70
9. PERSPECTIVAS.....	71
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72
11. ANEXOS	77



Tablas y figuras

Tabla	Pág.
1. Contenido de los tratamientos de Modelo 1	30
2. Contenido de los tratamientos de Modelo 2	32
3. Contenido de los tratamientos.....	36
4. Propiedades funcionales de los productos en estudio	46
5. Fracciones de almidón en los productos en estudio.....	47
6. Características basales de los participantes del estudio	52

Figura	Pág.
1. Micrografías electrónicas de barrido de la harina y el almidón nativo de banano ...	42
2. Micrografías electrónicas de barrido de Amioca y Hi-Maize 260.....	43
3. Difractogramas de rayos X de harina de banano, Amioca y Hi-Maize 260	45
4. Efectos del almidón resistente con carga de glucosa en ratas.....	50
5. Efectos del almidón resistente sin carga de glucosa en ratas.....	51
6. Respuestas glucémica e insulinémica postprandiales	53
7. Respuestas lipémicas postprandiales	54
8. Efectos del almidón resistente sobre las sensaciones subjetivas del apetito	56
9. Efectos del almidón resistente sobre la ingesta calórica	57



Glosario

Almidón resistente	Fracción del almidón que resiste la digestión en el intestino delgado y puede ser fermentado en el colon.
Amilosa	Polímero lineal o ligeramente ramificado, en donde los residuos de glucosa se unen por enlaces α -D-(1-4) y representa del 15% al 30% del almidón.
Amilopectina	Molécula ramificada con enlaces α -D-(1-4) y α -D-(1-6) y es el componente principal del almidón (30-99%).
Poder de hinchamiento	Parámetro relacionado con la fuerza de retención de agua en los gránulos de almidón.
Respuesta postprandial	Respuesta metabólica provocada por la ingesta de alimentos.
Saciación	Proceso que conduce a la interrupción de la alimentación (saciedad intra-comidas).
Saciedad	Proceso que lleva a la inhibición de comer y disminuye el apetito (saciedad entre-comidas).
Solubilidad	Parámetro relacionado con la cantidad de moléculas solubles lixiviadas de los gránulos de almidón presentes en una muestra seca.



Abreviaturas

AD	Almidón digerible
ALD	Almidón lentamente digerible
AGCC	Ácidos grasos de cadena corta
ANB	Almidón nativo de banano
AR	Almidón resistente
ARD	Almidón rápidamente digerible
AT	Almidón total
CCK	Colecistocinina
Ensanut	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición
EVA	Escala visual análoga
GLP-1	Péptido similar a glucagón tipo 1
HB	Harina de banano
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
HM	Hi-Maize 260
IMC	Índice de masa corporal
OMS	Organización Mundial de la Salud
PAD	Presión arterial diastólica
PAS	Presión arterial sistólica
PTA	Prueba de tolerancia a los alimentos
PYY	Péptido tirosina-tirosina
STZ	Estreptozocina



Resumen

INTRODUCCIÓN: Estudios previos han demostrado el efecto benéfico del consumo de almidón resistente (AR) sobre control metabólico y apetito. Aún se desconoce la participación de las características estructurales en los efectos de los almidones.

OBJETIVO: Determinar las características fisicoquímicas del almidón y la harina de banano y analizar su influencia sobre la respuesta metabólica y el apetito en sujetos con sobrepeso u obesidad.

MATERIAL Y MÉTODOS: Las siguientes características se determinaron en almidón y harina de banano: análisis proximal, digestibilidad *in vitro*, morfología, cristalinidad y propiedades funcionales. Se realizaron dos estudios cruzados en ratas para determinar los efectos sobre respuesta glucémica. Se realizó un estudio clínico, cruzado de tres brazos para estimar los efectos sobre respuesta metabólica y apetito en sujetos con sobrepeso u obesidad. Se compararon los efectos del consumo agudo de almidón nativo de banano (ANB) con almidón de maíz rico en amilosa (HM). Se evaluó respuesta glucémica, insulinémica, lipémica y sensación del apetito durante 360 min.

RESULTADOS: Se encontraron diferencias en propiedades fisicoquímicas y estructurales entre los gránulos de HM y ANB. Los derivados del banano presentaron un alto contenido de AR y menor de almidón digerible en comparación con HM. En ratas, HM provocó mayor respuesta glucémica comparado con ANB y harina de banano. En humanos, no se observaron diferencias en respuesta metabólica, sin embargo, HM mejoró la sensación subjetiva del apetito.

CONCLUSIÓN: Las diferencias en la respuesta glucémica en ratas y en la sensación subjetiva del apetito en humanos se podrían atribuir a las variaciones en las características estructurales de los almidones.

Palabras claves: almidón resistente, banana, respuesta metabólica, apetito, glucemia



Abstract

INTRODUCTION: Previous studies have shown the beneficial effect of the consumption of resistant starch (RS) on metabolic control and appetite. The participation of structural characteristics in the effects of starches is still unknown.

OBJECTIVE: To determine the physicochemical characteristics of starch and flour from banana and to analyze their influence on metabolic response and appetite in subjects with overweight or obesity.

MATERIAL AND METHODS: The following characteristics were determined in banana starch and flour: proximal analysis, *in vitro* digestibility, morphology, crystallinity and functional properties. Two crossover studies were conducted in rats to determine the effects on glycemic response. A three-arm crossover clinical study was conducted to estimate the effects on metabolic response and appetite in subjects with overweight or obesity. The effects of acute consumption of native banana starch (NBS) were compared with high amylose corn starch (HM). Glycemic, insulin and lipemic response and appetite sensation were evaluated for 360 min.

RESULTS: Differences in physicochemical and structural properties were found between HM and NBS granules. Banana derivatives presented a high content of RS and lower digestible starch in comparison with HM. In rats, HM elicited a higher glycemic response compared to NBS and banana flour. In humans, no differences in metabolic response were observed, however, HM improved subjective appetite sensation.

CONCLUSION: Differences in glycemic response in rats and in the subjective appetite sensations in humans could be attributed to variations in the structural characteristics of starches.

Keywords: resistant starch, banana, metabolic response, appetite, glycemia.



1. Introducción

1.1 Sobrepeso y obesidad

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define el sobrepeso y la obesidad como una acumulación anormal o excesiva de grasa que representa un riesgo para la salud. El índice de masa corporal (IMC) es una medida simple utilizada para indicar la adiposidad corporal total y se calcula por la división del peso corporal en kilogramos por el cuadrado de la talla en metros (kg/m^2). De acuerdo a los lineamientos de la OMS, el IMC se clasifica como normopeso (18.5 a 24.9 kg/m^2), sobrepeso (≥ 25 a 29.9 kg/m^2) y obesidad (≥ 30 kg/m^2) (Chooi y cols., 2019). Sin embargo, aunque el IMC está íntimamente relacionado con las medidas de grasa corporal, no permite distinguir entre masa magra o grasa y no indica la distribución de la adiposidad corporal; además, el IMC puede sobreestimar la adiposidad en individuos con masa muscular incrementada, como en los deportistas y subestimarla en enfermos o adultos mayores (Adab y cols., 2018). La medición de la circunferencia de la cintura es otro método simple para evaluar la adiposidad abdominal y se asocia fuertemente con la mortalidad cardiovascular, con o sin ajuste del IMC (Ross y cols., 2020). Para la población mexicana, una circunferencia de cintura >90 cm para hombres y >80 cm para mujeres se considera el punto de corte para el diagnóstico de obesidad abdominal (Bello-Chavolla y cols., 2021).

La obesidad se asocia con un mayor riesgo de padecer afecciones como diabetes, enfermedades cardiovasculares, desórdenes músculo-esqueléticos y algunos tipos de cánceres (World Health Organization, 2017). La prevalencia mundial de obesidad se



duplicó en todo el mundo desde 1980, alcanzando niveles pandémicos, ya que un tercio de la población mundial tiene sobrepeso u obesidad (Williams y cols., 2015). México ocupa el segundo lugar entre los países con mayor grado de obesidad en el mundo (Cordova Villalobos, 2016). De acuerdo con datos de La Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018-19 (Ensanut 2018-19) un 75.2% de adultos fueron diagnosticados con sobrepeso (39.1%) u obesidad (36.1%) y el 81.6% de la población total presentó obesidad abdominal (Barquera y cols., 2020). Las guías para la atención de la obesidad de los diversos organismos internacionales enfatizan que las intervenciones sobre el estilo de vida son la piedra angular en el manejo de la obesidad (Ryan y cols., 2018). La mayoría de los esquemas dietéticos para disminuir el peso se centran en conseguir una disminución del consumo energético y el cambio en la composición de los macronutrientes y el aumento del consumo de fibra dietaria (Fock y cols., 2013).

Aunque muchas causas potenciales pueden derivar en sobrepeso u obesidad, la alteración del balance energético parece ser el principal factor desencadenante. El control de la ingesta y el gasto energético son los dos mecanismos principales por los cuales se alcanza el balance energético (Romieu y cols., 2017). Aunque el cerebro es el principal regulador de la ingesta de alimentos como un comportamiento, la decisión de comer depende de la información que recibe el resto del cuerpo (Kim y cols., 2018). El hipotálamo es un centro clave para la detección del hambre y la organización de la conducta alimentaria. La regulación de la ingesta de nutrientes específicos es poco entendida, aun cuando tiene implicaciones directas sobre las enfermedades metabólicas y cardiovasculares (Cakir y cols., 2019).



El gasto energético es el otro determinante del equilibrio energético y del peso corporal, encontrándose vinculado estrechamente a los controles de la ingesta de alimentos (Gadde y cols., 2018). El aporte energético superior al gasto energético lleva a la acumulación de grasa, a pesar de que no todo el exceso de calorías ingeridas se almacena en el cuerpo, se estima que un 65% del exceso de calorías consumidas se recuperan como ganancia del peso corporal. Además, la ganancia de masa corporal se asocia con un incremento del gasto energético y, por lo tanto, a una tasa metabólica más alta en reposo (Bouchard, 2008).

La saciedad y la saciación son procesos que están involucrados en el sistema de control del apetito. Por una parte, la saciación conduce a la finalización del apetito y a la terminación de una comida, mientras que la saciedad es el sentimiento de satisfacción que oculta el hambre hasta el consumo del siguiente alimento. La saciedad y la saciación son indicadores de la sensación subjetiva del apetito y pueden estimarse mediante escalas análogas-visuales (EVA) (Flint y cols., 2000; de Lartigue y cols., 2011). Los péptidos gastrointestinales u hormonas del apetito son sustancias liberadas en el tracto gastrointestinal que actúan a nivel hipotalámico regulando el apetito y el balance energético (Zhou y cols., 2008). La grelina actúa estimulando el apetito y está involucrada en el inicio de la ingesta de alimentos. La colecistocinina (CCK) promueve la saciación y su administración experimental reduce el tamaño del alimento subsecuente. El péptido similar a glucagón tipo 1 (GLP-1) es un potente biomarcador de la saciedad y, cuando se administra en humanos, suprime la ingesta energética, promueve la saciedad y disminuye el hambre. La administración del péptido tirosina-



tirosina (PYY) en humanos reduce la ingesta de alimentos. CCK, GLP-1 y PYY son liberados por las células enteroendócrinas I y L del intestino delgado y grueso en respuesta a la ingesta de los alimentos (Batterham y cols., 2002).

1.2 Almidón

El almidón es sintetizado por las plantas verdes para almacenar la energía durante periodos prolongados. En los cloroplastos se produce una forma temporal durante la fotosíntesis, mientras que en los amiloplastos se genera un almidón para almacenarse durante un tiempo prolongado (Pérez y cols., 2010). El almidón es producido en una forma granular, aislándose fácilmente mediante la molienda húmeda. Los gránulos de almidón de diferentes fuentes botánicas presentan tamaños y morfologías características. El diámetro de los gránulos puede oscilar entre 0.1 a 200 μm (Jane, 2006). El almidón se compone de moléculas de glucosa unidas por enlaces α glucosídicos D-(1-4) y D-(1-6). Dos polímeros conforman la estructura principal del almidón: la amilosa y la amilopectina. La amilosa es un polímero lineal o ligeramente ramificado, en donde los residuos de glucosa se unen por enlaces α -D-(1-4), tiene un grado de polimerización (DP) de 6000 y representa del 15% al 30% del almidón. La amilopectina es una molécula ramificada con enlaces α -D-(1-4) y α -D-(1-6) y es el componente principal del almidón (Sajilata y cols., 2006).

La difracción de rayos X de ángulos pequeños muestra una distancia de repetición laminar de 9-10 nm, esto se atribuye a laminillas cristalinas y amorfas que se alternan en los anillos granulares semicristalinos. La distancia laminar es similar independientemente del contenido de amilosa en los gránulos. La amilopectina es el



componente molecular responsable de la organización laminar. La lámina cristalina está formada por hélices dobles de cadenas externas cortas de amilopectina de 10 a 20 residuos de glucosa (Bertoft, 2017). Estas dobles hélices cristalizan en un alomorfo tipo A o uno tipo B. El tipo B, presente en tubérculos y almidones ricos en amilosa, se estructura por dobles hélices que están empaquetadas en un modo antiparalelo y hexagonal; el canal central está rodeado por 6 dobles hélices y contiene 36 moléculas de agua por cada celda unitaria. El tipo A, localizado principalmente en cereales, es muy parecido al tipo B, con la excepción de que el canal central está ocupado por otra doble hélice, lo que conlleva a un empaquetamiento más compacto; sólo 8 moléculas de agua por celda unitaria se encuentran entre las dobles hélices. Algunas plantas, como los guisantes, legumbres y variedades de banano, presentan gránulos con patrón mixto denominado tipo C. La cristalinidad relativa en los gránulos de almidón varía desde el 17% hasta un 50%, siendo más alta en aquellos con mayor contenido de amilopectina (Sajilata y cols., 2006; Hanashiro, 2015; Ren, 2017).

El almidón es degradado *in vivo* hasta glucosa durante la digestión. Este proceso de hidrólisis enzimática está influido por el tipo de almidón, la disponibilidad enzimática y la motilidad gástrica. Las α -amilasas pancreática y salivar hidrolizan los enlaces α -D-(1-4) de la amilosa y la amilopectina. Esto convierte el almidón enlazado linealmente en oligosacáridos de 2-9 unidades de glucosa. El almidón ramificado y los segmentos unidos por enlaces α -D-(1-6) son convertidos en oligosacáridos de 5-9 glucosas. En el intestino delgado, la isomaltasa hidroliza los oligosacáridos unidos por enlaces α -D-(1-6); en el borde en cepillo de la mucosa intestinal, α -glucosidasa y la maltasa hidrolizan



los enlaces α -D-(1-4) para producir glucosa (Khatun y cols., 2019). De acuerdo con el método de digestibilidad *in vitro* de Englyst, el almidón rápidamente digerible (ARD) es aquel digerido dentro de los 20 min. El almidón lentamente digerible (ALD) es digerido de los 20 a los 120 min. Mientras que el almidón restante sin digerir posterior a los 240 min es denominado como almidón resistente (AR).

El ALD se define como la fracción del almidón que es digerido lentamente en el intestino delgado, resultando en una glucemia inicial baja seguida por una liberación lenta y prolongada de la glucosa al torrente sanguíneo. A diferencia del ARD, el ALD no es digerido por la α -amilasa salival en la cavidad oral o el ácido gástrico del estómago o por la trituración vigorosa de la motilidad estomacal (Zhang y cols., 2009; Miao y cols., 2015). La estructura del almidón es la base de dos mecanismos metabólicos para los beneficios del ALD: La estructura física del gránulo que limita el acceso de las enzimas digestivas y la estructura química que restringe la tasa de la acción de las enzimas digestivas. Los gránulos de almidones nativos son ALD ideales por su estructura física semicristalina con una digestibilidad lenta. A pesar de un mayor contenido de ALD, este pierde su propiedad si es sometido a procesamiento térmico (Zhang y cols., 2006; Zhang y cols., 2008).

El AR se define como la fracción del almidón que resiste la digestión en el intestino delgado de individuos sanos y puede ser fermentado en el colon. También se puede definir al AR como la suma del almidón y productos de su degradación que no son absorbidos en el intestino delgado de un humano sano (Leszczynski, 2004). El AR es considerado una fibra dietaria debido a que alcanza el colon sin ser digerido y aumenta



la producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) (Fuentes-Zaragoza y cols., 2010). El banano verde es el alimento con mayor contenido de AR. El almidón obtenido por insolubilización se considera nativo, por no tener ningún tipo de procesamiento químico o térmico (Tribess y cols., 2009).

Actualmente, el AR se clasifica en 5 tipos generales de acuerdo a sus características estructurales y sus mecanismos de resistencia a la digestión. El AR tipo 1 incluye el almidón presente en las células de plantas con paredes celulares no dañadas, como en los granos de cereal no completamente molidos, es inaccesible a las enzimas amilolíticas, ya que el tracto gastrointestinal carece de enzimas capaces de degradar celulosa, hemicelulosa o lignina. El AR tipo 2 incluye gránulos de almidón crudo de algunas especies, como el banano, maíz o papa, protegidos de la digestión por su conformación o estructura; por causa de su naturaleza cristalina, los gránulos nativos y no cocidos son poco susceptibles de hidrólisis, ya que su estructura compacta lo hace inaccesible a las enzimas digestivas y a las amilasas (Raigond y cols., 2015).

El AR tipo 3 incluye los almidones modificados físicamente, es un almidón retrogradado, principalmente amilosa retrogradada/recristalizada. El AR 3 se forma durante el enfriamiento de un almidón gelatinizado o en almidones cocidos que son mantenidos a temperaturas bajas o ambiente, resultando en un producto muy estable térmicamente. El AR tipo 4 es un grupo de almidones modificados químicamente por esterificación, reticulación o transglucosilación y son similares a los oligosacáridos resistentes y la povidexrosa. El grado de modificación química y el nivel de resistencia son directamente proporcionales (Leszczynski, 2004). Por último, el AR tipo 5 se obtiene



por la formación de complejos amilosa-lípidos. Estos complejos se forman durante el procesamiento de alimentos y se pueden preparar bajo condiciones controladas. Estos polisacáridos promueven la formación de ácidos grasos de cadena corta, principalmente el butirato (Raigond y cols., 2015; Dhital y cols., 2017).

1.3 Efectos fisiológicos del almidón resistente

El papel de la fibra dietaria como medida preventiva de la obesidad o diabetes se demostró en estudios como el de Tuomilehto y cols., donde una dieta con un alto contenido en fibra contribuyó a una reducción del 58% en la incidencia de diabetes (Tuomilehto y cols., 2001). Las fibras alimentarias y el AR son capaces de aumentar la saciedad mediante un aumento del volumen y la viscosidad, la disminución de la absorción de glucosa y la estimulación en la secreción de hormonas del apetito (Sharma y cols., 2008). Bodinham y cols., demostraron que la ingestión aguda de AR de maíz en individuos sanos disminuyó la ingesta calórica durante una prueba de alimentación a libre demanda (Bodinham y cols., 2010). Otros estudios en animales muestran que el AR sobrerregula la expresión de hormonas intestinales como PYY y GLP-1 (Zhou y cols., 2008).

En el mismo sentido, Al-Mana y cols. (2018) reportaron que el consumo agudo de 48 g de AR disminuyó la ingesta de energía en un almuerzo a libre demanda, aunque no se observaron cambios en las sensaciones subjetivas de saciedad durante 24 h; además, la glucosa postprandial disminuyó a pesar de que la insulina y el GLP-1 no se vieron afectados. En un meta-análisis, al evaluar el efecto del consumo de AR sobre el apetito en adultos sanos, se encontró que el AR disminuyó el apetito en comparación a los



controles, aunque esta reducción se observó en los trabajos donde se ingirieron dosis ≥ 25 g de AR; adicionalmente, el AR tipo 2 mostró disminuciones significativas en comparación a los estudios donde se utilizó el AR tipo 1 (Amini y cols., 2021).

El consumo crónico de 25 g de AR tipo 2 por individuos con diabetes durante 8 semanas mejoró la insulina en ayuno, además, disminuyó la resistencia a la insulina a pesar de que la glucosa en ayuno y postprandial no mostraron cambios entre los tratamientos (Dainty y cols., 2016). En otro estudio, la ingestión diaria de 8.1 g de AR tipo 2 por sujetos con sobrepeso u obesidad durante 4 semanas mejoró las concentraciones de insulina, el perfil de lípidos y el estado antioxidante en los participantes (Eshghi y cols., 2019). Lo anterior fue corroborado por Wang y cols. (2019), en un meta-análisis donde se concluyó que la suplementación con AR mejoró la glucosa e insulina en ayuno y la sensibilidad a la insulina, principalmente en individuos con diabetes y con sobrepeso u obesidad.

En mujeres con obesidad, la administración de 30g de almidón nativo de banano (ANB) durante 8 semanas indujo una disminución de glucemia y la resistencia a insulina, similares a lo observado con la administración de 850 mg de metformina/día (Ble Castillo y cols., 2012). En mujeres con obesidad y diabetes, la suplementación diaria con 24 g de ANB durante 4 semanas, redujo el peso corporal y la resistencia a la insulina. En un estudio reciente se comprobó que la administración del ANB durante 5 días disminuyó la glucemia postprandial de 48 h cuando se usó monitoreo continuo de glucosa en individuos delgados o con obesidad. Este estudio mostró que el tratamiento con el ANB mejoró la respuesta glucémica por periodos prolongados. Este efecto es de



gran importancia ya que una mayor hiperglucemia postprandial se asocia directamente con el incremento de la mortalidad, y el disminuirla se ha convertido en una estrategia para el manejo de obesidad y diabetes (The Decode study group, 1999; Jimenez-Dominguez y cols., 2015).

Los mecanismos relacionados con los efectos del AR sobre el metabolismo y el apetito son pobremente entendidos. La reducción de la carga glucémica se propuso inicialmente como un mecanismo principal, ya que los efectos sobre la respuesta glucémica se evaluaron al reemplazar el AD por el AR y no cuando se añadió el AR al AD (Wong y cols., 2017). Posteriormente, en otros estudios más recientes, se observó que la respuesta glucémica disminuyó con un contenido de AD similar entre tratamientos, pero adicionando AR (Ble-Castillo y cols., 2010; Jimenez-Dominguez y cols., 2015). La estimulación en la liberación de las hormonas intestinales como el GLP-1 y el péptido YY, así como la producción de AGCC se consideran otro mecanismo del AR (Lockyer y cols., 2017; Wong y cols., 2017). Además, la fermentación del AR puede impactar o reorganizar la composición, la diversidad y la abundancia de la microbiota intestinal; estos cambios se asocian con una disminución del riesgo para enfermedades metabólicas como diabetes y obesidad (Liu y cols., 2020).



2. Planteamiento del problema

A pesar de que existe evidencia creciente de los efectos benéficos del AR sobre el metabolismo postprandial y la regulación del apetito en animales y humanos, todavía se conoce poco sobre cuales características estructurales son fundamentales para la cinética y el grado de digestión *in vivo* de los almidones. Un ejemplo de esto, puede ser el papel de la cristalinidad durante la digestión enzimática, ya que no se sabe si esta estructura, observada en estudios *in vitro*, forma parte de las matrices de los almidones ingeridos en su forma natural o si se forman durante el proceso de la digestión. Además, existen dudas sobre la efectividad de los métodos de digestión *in vitro* utilizados para simular la digestión de alimentos con AR en humanos. Lo anterior plantea un desafío para el estudio de los efectos del AR sobre las respuestas metabólicas y la ingesta de alimentos en seres humanos.

Por otro lado, recientemente se ha demostrado que dos almidones de diferentes fuentes, pero clasificados como AR del mismo tipo, pueden presentar respuestas fisiológicas completamente diferentes, lo que ha llevado a un estudio más profundo de sus características estructurales que puedan provocar estas diferencias. Actualmente, la evidencia sugiere que, además del contenido de AR, cantidades mayores de ALD puede afectar las respuestas metabólicas de los sujetos de experimentación. Adicionalmente, otras propiedades como la solubilidad, el contenido de amilosa, la longitud de las cadenas de amilopectina o el poder de hinchamiento pueden afectar el grado de digestibilidad de los almidones. Lo anterior podría explicar la variabilidad de los resultados en las respuestas glucémica, insulinémica y del apetito entre los diferentes trabajos de investigación.



A pesar de lo mencionado, a nuestro conocimiento, aunque existen trabajos que han evaluado las características fisicoquímicas y funcionales de los almidones administrados, estos no estudian los efectos de su ingestión en humanos o animales. Por otra parte, en otros trabajos se analizan los efectos del consumo agudo o crónico de AR, pero no se examinan las propiedades estructurales del AR lo que, hasta el momento, no existe una comprensión integral de los mecanismos involucrados en las respuestas fisiológicas al AR y la relación con sus propiedades fisicoquímicas. En este sentido, surge la necesidad de llevar a cabo estudios que evalúen las propiedades estructurales del almidón que pueden influir sobre los efectos beneficiosos del AR sobre las respuestas metabólicas.

Por lo anterior surgió la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuál es la relación entre las propiedades fisicoquímicas del almidón y la harina de banano y sus efectos sobre la respuesta metabólica y el apetito en individuos con sobrepeso u obesidad?



3. Justificación

El sobrepeso y la obesidad se han convertido en un problema de salud pública en México, ya que más del 80% de la población adulta padece de obesidad abdominal. El manejo nutricional es la principal estrategia para disminuir su prevalencia. El aumento del consumo de productos con alto contenido de AR representa una alternativa para mejorar la respuesta metabólica y el apetito en individuos sanos, con obesidad o diabetes.

A pesar de que se recomienda la ingesta de AR, no existe un consenso sobre los efectos beneficiosos del AR en la respuesta metabólica, ya que los almidones obtenidos de diferentes fuentes pueden presentar efectos variables cuando se administran a los seres humanos. Aun cuando existen muchos estudios en esta área, son muy escasos los estudios que abordan la relación que existe entre las propiedades fisicoquímicas de esta sustancia y sus efectos benéficos en el control metabólico tanto de animales como de humanos. La importancia de estudios que incluyan ambos enfoques es que permitirá determinar cuales son las propiedades fisicoquímicas de los almidones que podrían determinar mejores efectos metabólicos. En el presente trabajo se analizan las propiedades fisicoquímicas de almidones de diferentes fuentes y sus efectos metabólicos tanto en modelos animales como en humanos.



4. Objetivos

4.1. General

- Determinar las características fisicoquímicas del almidón y la harina de banano y analizar su influencia sobre la respuesta metabólica y el apetito en individuos con sobrepeso u obesidad.

4.2. Específicos

- Estandarizar la extracción del almidón nativo y de la harina de banano (*Musa cavendish* AAA).
- Realizar la caracterización fisicoquímica del almidón y harina de banano.
- Comparar los efectos de los productos en estudio sobre la respuesta glucémica postprandial en roedores.
- Evaluar el efecto de la administración del almidón resistente sobre la respuesta glucémica y lipémica en sujetos con sobrepeso u obesidad.
- Determinar el efecto de la administración del almidón resistente sobre la sensación subjetiva del apetito y el consumo calórico en sujetos con sobrepeso u obesidad.



5. Material y métodos

5.1. Instituciones participantes

Este trabajo se realizó con la colaboración directa entre el Centro de Investigación de la DACS UJAT con las siguientes instituciones:

- División Académica de Ciencias Biológicas (DACBiol) UJAT.
- Laboratorio 11 del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAM.
- Laboratorio de Desarrollo de Productos Bióticos de la División Académica de Ciencias Agropecuarias (DACA) UJAT.
- Laboratorio de Análisis Especiales y Tecnología de Alimentos de la Universidad Tecnológica de Tabasco (UTTAB).

5.2. Estandarización de la extracción de almidón y harina de banano

La harina y el almidón fueron extraídos de bananos inmaduros de la variedad *Musa [AAA group] dwarf cavendish*, obtenidos de una planta empacadora ubicada en el km 44.5, de la Carretera Villahermosa, Teapa. Se emplearon cerca de 1000 kg de producto, con grado de maduración 1 y 2, de acuerdo a la escala de von Loesecke, y que no cumplieron los criterios de calidad de la SAGARPA para su exportación. Todos los frutos fueron procesados dentro de los primeros dos días posteriores a la cosecha para disminuir la hidrólisis del almidón en azúcares durante la maduración natural del fruto.



5.2.1. Extracción de almidón nativo de banano

La extracción de almidón de banano se realizó en el Laboratorio de Desarrollo de Productos Bióticos de DACA UJAT. Los bananos fueron pesados en una báscula electrónica porcionadora (Torrey LEQ5-CAP). Los frutos se introdujeron en una solución jabonosa para su lavado, se enjuagaron y colocaron en solución de ácido cítrico al 0.5% para disminuir su oxidación (oscurecimiento). Se retiró la cáscara, se cortaron en rodajas de 3-5 cm de grosor y se sumergieron en una solución de ácido cítrico nuevamente. Posteriormente, se trituraron a baja velocidad en una licuadora industrial (10 kg fruta /10 L de solución) durante 4 min.

El homogenizado se lavó tres veces consecutivamente, a través de filtrado (mallas de 40, 60 y 100 mesh) con una solución de ácido cítrico al 0.3% para retirar la fibra. El filtrado se sedimentó durante 16 h a 4°C y se separó el sobrenadante por decantación. El almidón se secó por convección a 50 °C en una secadora de charolas (Modelo SEM-2, Polinox México) durante 16 h. Finalmente, el almidón se trituró en un molinillo (Hamilton Beach 80393) y se tamizó (malla 100 mesh) para obtener un polvo fino. Se almacenó en contenedor de plástico sellado a 4 °C hasta su uso posterior.



5.2.2. Extracción de harina de banano

El proceso de extracción de harina de banano se realizó en el Laboratorio de Análisis Especiales y Tecnología de Alimentos de la UTTAB. Este proceso inició con el pesaje de los frutos inmaduros en una báscula electrónica porcionadora (Torrey LEQ5-CAP). Los frutos se introdujeron en una solución jabonosa para su lavado, se enjuagaron y colocaron en una solución de ácido cítrico al 0.5% para disminuir su oxidación (oscurecimiento), se procedió a retirar la cáscara y se sumergieron en una solución de ácido cítrico nuevamente durante 15 min. Los frutos pelados se sometieron a uno de dos tipos de tratamiento:

En el primero, los frutos se cortaron en rodajas de 2-3 mm de grosor con un rallador manual y se sumergieron en la solución con ácido cítrico. Las rodajas se secaron en un deshidratador de charolas a vapor a 65 °C (JERSA A-VAPOR) durante 6 horas. El producto deshidratado se trituró en un molino pulverizador (Pulvex 200) y se tamizó (mallas 20, 40 y 60 mesh) para obtener un polvo fino. El material retenido durante el tamizaje se volvió a triturar, repitiéndose hasta 3 veces el proceso de molienda y tamizaje.

En el segundo, los frutos se introdujeron en un procesador de verduras industrial (Torrey PV-90) empleando un disco de rallado (RA-2) y se obtuvo una ralladura fina de 2-3 mm de grosor que se sumergió en la solución con ácido cítrico. Las ralladuras se secaron en el deshidratador de charolas a vapor a 65 °C durante 4 horas. El producto deshidratado fue triturado en un molino pulverizador (Pulvex 200) y se tamizó (mallas 20, 40 y 60 mesh) para obtener un polvo fino. El material retenido durante el tamizaje se volvió a triturar, repitiéndose hasta 3 veces la molienda y el tamizado.



5.3. Caracterización fisicoquímica

5.3.1. Determinación de humedad, cenizas, grasas y proteínas

Humedad

La humedad se determinó de acuerdo al método de la NOM-247-SSA1-2008. La muestra se secó previamente durante una hora a 130 ± 3 °C y se enfrió en desecador con sílica gel durante una hora. Se pesaron 2 g de la muestra y se colocó en cajas de aluminio de 55 mm de diámetro por 15 mm de altura con tapa. La caja semitapada con la muestra se introdujo en la estufa y se secó durante una hora a 130 ± 3 °C. El tiempo se empezó a contar a partir de que la temperatura en la estufa alcanzara los 130 ± 3 °C. Después de una hora, la caja se tapó dentro de la estufa. La caja se sacó, se colocó en el desecador hasta alcanzar la temperatura ambiente. Una vez que se enfrió la muestra, se pesó y se evaluó la humedad como la pérdida de peso. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado. La diferencia entre los tres resultados en las mismas condiciones no excedió de $\pm 0.2\%$.

La humedad en la muestra se calculó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ humedad} = \frac{(A - B) \times 100}{W}$$

Donde:

A = Peso de la caja con muestra en g.

B = Peso de la caja con muestra desecada en g.

W = Peso de la muestra en g.



Cenizas

La determinación de cenizas se realizó de acuerdo a la NMX-F-066-s-1978 por duplicado. En un crisol a peso constante, se colocaron 2 g de muestra, se colocó el crisol en una parrilla y se quemó lentamente el material hasta que ya no desprendió humo, teniendo extremo cuidado de que ningún material fuese proyectado fuera del crisol. El crisol con el residuo se introdujo a una mufla a 525 ± 25 °C, hasta su calcinación completa. El crisol se dejó enfriar en la mufa, se transfirió al desecador para su completo enfriamiento y se determinó el peso del crisol con cenizas.

Las cenizas en la muestra se calcularon con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ cenizas} = \frac{(P - p) \times 100}{M}$$

Donde:

P = Peso del crisol con las cenizas en g.

p = Peso del crisol vacío en g.

M = Peso de la muestra en g.

Grasas

Las grasas se determinaron por el método de extracto etéreo (Soxhlet) descrito en la NMX-F-615-NORMEX-2018 por duplicado. En un cartucho se colocaron 2 g de la muestra y se cubrió con una porción de algodón. El cartucho con la muestra se colocó dentro del extractor Soxhlet. En la parte inferior se ajustó un matraz de ebullición con fondo plano de 250 mL, llevado previamente a peso constante por calentamiento a 100-110 °C). Posteriormente se colocó el refrigerante. Se añadieron aproximadamente 80 mL de éter de petróleo por el extremo superior del refrigerante, equivalente a 2-3



descargas del extractor. Se hizo circular agua fría por el refrigerante y se calentó el matraz con una placa calefactora MS7-H550-S (Science-Med Laboratory Instruments Limited, Helsinki, Finlandia) hasta obtener una frecuencia de 3 gotas por segundo. La extracción se realizó durante 6 horas, se suspendió el calentamiento, se dejó evaporar lentamente el éter de petróleo del matraz y se secó a 100 °C hasta peso constante.

Las grasas en la muestra se calcularon con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ extracto etéreo} = \frac{(P - p) \times 100}{M}$$

Donde:

P = Peso del matraz con grasas en g.

p = Peso del matraz sin grasas en g.

M = Peso de la muestra en g.

Proteínas

El contenido de proteínas se cuantificó por el método de Kjeldhal, de acuerdo a la NMX-F-068-S-1980 por duplicado. Muestras previamente desecadas para determinar se utilizaron para esta determinación. Se pesó 1 g de muestra y se transfirió a un matraz Kjeldahl, se agregaron 2 g de sulfato de cobre, 10 g de sulfato de sodio anhidro, 25 mL de ácido sulfúrico y perlas de vidrio. El matraz se colocó en el digestor y se calentó a baja temperatura (200 °C) hasta que todo el material se carbonizó; la temperatura se aumentó gradualmente hasta que la disolución estuviera completamente clara (405 °C) y se dejó durante 30 min a esa temperatura. La solución se enfrió y se añadieron de 400-450 mL de agua para disolver completamente la muestra, se agregaron 3-4 gránulos de zinc y 50 mL de hidróxido de sodio 1:1. Inmediatamente, se conectó el



matraz a un sistema de destilación, conectando a la salida del refrigerante un matraz Erlenmeyer de 500 mL con 50 mL de ácido bórico al 2% y unas gotas del reactivo indicador de Shiro Tashiro. La solución se destiló hasta que hubiera pasado todo el amoníaco y hasta que el destilado no diera alcalinidad con el papel tornasol. Se retiró el matraz receptor y se tituló el destilado con ácido clorhídrico 0.1 N, anotándose el volumen empleado.

El nitrógeno presente en la muestra se calculó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de nitrógeno} = \frac{V \times N \times 0.014 \times 100}{M}$$

$$\% \text{ de proteínas} = \% \text{ de nitrógeno} \times 6.25$$

Donde:

V = Volumen de HCl empleado en la titulación, en mL.

N = Normalidad del HCl.

M = Peso de la muestra en g.

0.014 = Miliequivalente del nitrógeno.

6.25 = Factor para convertir nitrógeno a proteína en determinados productos.



5.3.2. Contenido de almidón digerible, almidón resistente y almidón total

Las determinaciones de AR, AD y almidón total (AT) se realizaron de acuerdo a la técnica descrita en el kit comercial K-DSTRS 11/2019 para la detección de almidón resistente y almidón digerible (Megazyme Ltd Co, Wicklow, Irlanda) con modificaciones menores. Este kit se encuentra diseñado específicamente para medir el contenido de almidón resistente, las fracciones de almidón digerible (rápidamente digerible, lentamente digerible y digerible total) y almidón total en los alimentos y es aceptado por la AOAC International (método 2017.16).

Las muestras se incubaron con una mezcla de α -amilasa pancreática (4 KU/5 mL) y amiloglucosidasa (1.7 KU/5 mL) en un búfer de maleato (pH 6.0) a 37 °C durante 4 horas con agitación magnética. Las alícuotas de la solución de reacción se removieron a los 20 min (para medir ARD), a los 120 min (para medir ALD) y a los 240 min (para medir AD total y AR). Para medir el AR, se removió una alícuota de 4 mL a los 240 min, mientras la solución continuaba agitándose. La reacción se detuvo con etanol al 99%, seguido de centrifugación y se decantó el sobrenadante para recuperar el AR como un botón en el fondo del tubo. El botón se lavó dos veces por resuspensión en etanol al 50% (v/v de agua), seguido por centrifugación y decantación. El botón de AR se disolvió en NaOH 1.7 M por agitación en un baño de agua con hielo sobre un agitador magnético. Esta solución se neutralizó con un búfer de acetato y el almidón se hidrolizó cuantitativamente a D-glucosa por la acción de la amiloglucosidasa (3,300 U/mL). La solución se transfirió a un matraz aforado y se ajustó el volumen a 100 mL con agua desionizada, se mezcló bien, se obtuvo una alícuota y se centrifugó durante 5 min. La D-glucosa se midió con el reactivo de glucosa oxidasa/peroxidasa (GOPOD).



El AR en la muestra se calculó con la siguiente fórmula:

$$\text{Almidón resistente} \left(\frac{g}{100 \text{ g de muestra}} \right) = \Delta A \times F \times \frac{EV}{W} \times FV \times 0.000225$$

Donde:

ΔA = Absorbancia de la reacción con GOPOD de la muestra leída contra el blanco de reactivo.

EV = Volumen de extracción (20.5 mL), en el caso de una muestra inicial de 0.5 g.

F = 100 μ g de D-glucosa de la solución estándar / absorbancia de la solución estándar.

FV = Volumen final (100 mL) en el caso de muestras con AR > 10%.

W = Peso seco de la muestra analizada = peso "tal cual" de la muestra analizada en g.

Para cuantificar ARD, ALD y ADT se obtuvieron alícuotas de 1 mL mientras la suspensión continuaba siendo agitada y transferidas a 20 mL de ácido acético 50 mM para detener la reacción. Estas soluciones se mezclaron vigorosamente y alícuotas de 0.1 mL se incubaron con 0.1 mL de AMG (100 U/mL) para hidrolizar la maltosa a D-glucosa. El contenido de D-glucosa se cuantificó con el reactivo GOPOD.

El almidón digerible (ARD, ALD y ADT) en la muestra se calculó con la siguiente fórmula:

$$\text{Almidón digerible (ARD, ALD o ADT)} \left(\frac{g}{100 \text{ g de muestra}} \right) = \Delta A \times F \times \frac{EV}{W} \times 0.0189$$



Donde:

ΔA = Absorbancia de la reacción con GOPOD de la muestra leída contra el blanco de reactivo después de 20 min (ARD); a los 120 min-20 min (ALD) y a los 240 min (ADT).

F = 100 μg de D-glucosa del estándar / absorbancia del estándar.

EV = Volumen de extracción (20.5 mL), en el caso de una muestra inicial de 0.5 g.

W = Peso seco de la muestra analizada = peso "tal cual" de la muestra analizada en g.

El contenido de almidón total se calculó con la siguiente fórmula:

$$\textit{Almidón total} = \textit{Almidón resistente} + \textit{Almidón digerible total}$$

5.3.3. Análisis de la morfología del gránulo

La morfología de la harina y de los almidones se analizó mediante un microscopio electrónico de barrido de emisión de campo JSM-7610F (JEOL Ltd, Massachusetts, EE. UU.). Las muestras molidas se colocaron sobre papel conductor de carbono y se metalizaron con una aleación de oro-platino durante 1 min con un revestidor giratorio Quorum Q150R ES (Quorum Technologies Ltd, Lewes, Reino Unido) y posteriormente se analizaron con las siguientes condiciones: resolución de 1 nm, acelerador de voltaje de 5 kV y corriente de sonda de hasta 200 nA, con ampliación 500X con micrografía de 10.3 mm. Se determinaron el tamaño, forma y estructura granular de los productos estudiados.



5.3.4. Cristalinidad relativa

Los patrones de difracción de rayos X (DRX) de las muestras se obtuvieron utilizando un difractómetro de rayos X de polvo D8 Advance (Bruker AXS GmbH, Karlsruhe, Alemania) operado a 40 kV y 30 mA en un rango angular 2θ entre 3 a 60° . La radiación Cu K α con longitud de onda $\lambda=1.54 \text{ \AA}$ se utilizó para este análisis. Las muestras se colocaron sobre el portamuestra del difractómetro, recolectando la medición en un intervalo de 4 a 38° cada 0.1° , con una velocidad de barrido de $1^\circ/60 \text{ s}$. La línea base del difractograma se corrigió en el intervalo de barrido. El vector se normalizó y el porcentaje de cristalinidad se calculó con el programa EVA 4.1.1 2015 (Bruker AXS GmbH, Karlsruhe, Alemania) trazando en los difractogramas una curva que conecta cada punto de intensidad mínima. El área por encima de la curva se consideró como la porción cristalina y el área entre la curva y una línea base que conectó los dos puntos de intensidad a 4° y 38° se consideró como porción amorfa. El área del pico de difracción superior y el área de difracción total sobre el ángulo de difracción se integraron en el programa EVA 4.1.1 2015. La relación entre el área superior y el área total de difracción se tomó como el grado de cristalinidad de acuerdo con el método de Nara y Komiya (1983).



5.4. Propiedades funcionales

5.4.1. Solubilidad y poder de hinchamiento

La solubilidad y el poder de hinchamiento se determinaron de acuerdo al método descrito por Sathe y cols., (1981). En un tubo de 50 mL, previamente tarado, se prepararon 40 mL de una suspensión de almidón (en base seca) en agua destilada (1% p/v). Un agitador magnético se introdujo al tubo y se colocó en un baño de agua (Cole-Parmer, Illinois, EE. UU.) a temperatura constante (25, 60, 70, 80 o 90 °C). Un termómetro se adaptó al tubo y se mantuvo agitación constante para alcanzar una suspensión uniforme durante 30 min. Pasado este tiempo, se retiró el tubo del baño, se extrajo el agitador magnético de la suspensión, se retiró el exceso de humedad de las paredes externas y se centrifugó a $2121 \times g$ durante 15 min (centrífuga Orto-Alresa, Madrid, España). El sobrenadante se decantó y se pesaron los gránulos hinchados. Del sobrenadante se tomaron 10 mL y se colocaron en un crisol a peso constante para secarlos a 120 °C durante 4 h en una estufa de secado (Thermo Fisher Scientific Inc, Maryland, EE. UU.). El producto secado se colocó en un desecador y se pesaron.

La solubilidad y el poder de hinchamiento se calcularon con las siguientes fórmulas:

$$\text{Solubilidad (\%)} = \frac{\text{Peso del almidón soluble}}{\text{Peso de la muestra [base seca(b.s.)]}}$$

$$\begin{aligned} \text{Poder de hinchamiento } \left(\frac{g \text{ agua}}{g \text{ almidón}} \right) \\ = \frac{\text{Peso del sedimento}}{\text{Peso de la muestra (b.s.)} \times (100 - \% \text{ solubilidad})} \end{aligned}$$



5.4.2. Absorción de agua

La absorción de agua se determinó mediante el método descrito por Anderson y cols., (1970). En un tubo de 50 mL, previamente tarado, se prepararon 40 mL de una suspensión de almidón (base seca) en agua destilada (1% p/v). Un agitador magnético se introdujo al tubo y se colocó en un baño de agua (Cole-Parmer, Illinois, EE. UU.) a temperatura constante (25, 60, 70, 80 o 90 °C). Un termómetro se adaptó al tubo y se mantuvo agitación constante para alcanzar una suspensión uniforme durante 30 min. La suspensión se colocó en una centrífuga (Orto-Alresa, Madrid, España) a 2121 × g durante 15 min. Finalmente, el gel resultante se pesó.

La capacidad de absorción de agua se calculó con la siguiente fórmula:

$$\text{Capacidad de absorción de agua} = \frac{P2}{P1}$$

Donde:

P2= Peso en g de los gránulos hinchados

P1= Peso en g de la muestra en base seca



5.5. Efectos del consumo agudo de AR sobre la respuesta glucémica postprandial en roedores

5.5.1. Diseño y sitio de experimentación animal

El diseño de los dos estudios en roedores fue experimental, controlado, aleatorizado y cruzado. Las actividades experimentales se realizaron en el Laboratorio 11 del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina, UNAM.

5.5.2. Efecto del almidón resistente con carga de glucosa

Animales de experimentación

Se utilizaron 30 ratas macho de la cepa Wistar. La producción, cuidado y manejo de las ratas se llevó a cabo en la Unidad de Bioterio de la Facultad de Medicina de la UNAM. Se emplearon animales de ocho semanas de edad y de 180-220 g de peso corporal. Las ratas se colocaron en grupos de cinco animales por caja. Las siguientes condiciones se mantuvieron controladas: iluminación con ciclos de luz/oscuridad de 12 h por día (7:00 – 19:00 h), temperatura de 24 ± 1 °C, humedad relativa de $50 \pm 5\%$, con acceso al agua purificada y alimento estándar para roedor a libre demanda (LabDiet Rodent® 5001) y recambio de aire constante.

Descripción general del experimento

Las 30 ratas se aleatorizaron en dos grupos de 15 animales cada uno

- 1) Grupo control (GC1).
- 2) Grupo con hiperglucemia postprandial inducida por estreptozocina (GH1).



Posterior a la aleatorización, a los animales de GH1 se administró una dosis única de 40 mg de estreptozocina (STZ) / kg de peso corporal por vía intraperitoneal diluidos previamente en búfer de citrato 0.1 M con pH 4.5; a las ratas asignadas al GC1 se les administró únicamente el búfer de citrato 0.1 M con pH 4.5. Durante los días posteriores se les suministró agua purificada y dieta estándar para roedores. La glucosa en ayuno y la respuesta glucémica postprandial se evaluó a los 8 días de la administración de STZ. A los 12 días de la aplicación de STZ, se inició la administración aguda de los tratamientos de prueba adicionados con 1 g de D-glucosa / kg de peso corporal diluidos en agua mediante una cánula orogástrica de 18-20 G, para realizar la prueba de tolerancia al almidón más glucosa de 120 minutos, por punción caudal de cada rata:

- 1) ANB (Almidón nativo de banano).
- 2) Amioca.
- 3) HM1 (Hi-Maize 260).

La dosis de los tratamientos se ajustó al contenido de almidón resistente en 1 g de Hi-Maize 260®, independientemente del peso corporal de cada animal. La cantidad de almidón resistente y digerible para cada tratamiento se ajustó para ser similar entre todos los tratamientos (Tabla 1). El volumen total a administrar en cada uno de los grupos fue de 8 mL/kg de peso corporal. Cada animal recibió los tres tratamientos de manera aleatorizada. La glucosa sanguínea se determinó con un glucómetro FreeStyle Optium Neo (Abbott Diabetes Care) en los siguientes tiempos: basal (tiempo 0), 30, 60, 90 y 120 minutos del periodo postprandial. Al finalizar el experimento, los animales fueron sacrificados en una cámara de CO₂.



Tabla 1. Contenido de los tratamientos de Modelo 1

	Tratamientos		
	Amioca	ANB	HM1
Almidón nativo de banano (mg)	0	857	0
Hi-Maize (mg)	0	0	1000
Amioca (mg)	400	314.3	0
Contenido de almidón			
AR (mg)	0	600	600
AD (mg)	400	400	400

Se muestran los pesos de tratamientos por kg de peso corporal de la rata. ANB, almidón nativo de banano; HB, harina de banano; HM, Hi-Maize.

5.5.3 Efecto del almidón resistente sin carga de glucosa

Animales de experimentación

Se utilizaron 20 ratas macho de la cepa Wistar. La producción, cuidado y manejo de las ratas se llevó a cabo en la Unidad de Bioterio de la Facultad de Medicina de la UNAM. Se emplearon animales de ocho semanas de edad y de 180-220 g de peso corporal. Las ratas se colocaron en grupos de cinco animales por caja. Las siguientes condiciones se mantuvieron controladas: iluminación con ciclos de luz/oscuridad de 12 h por día (7:00 – 19:00 h), temperatura de 24 ± 1 °C, humedad relativa de $50 \pm 5\%$, con acceso al agua purificada y alimento estándar para roedor a libre demanda (LabDiet Rodent® 5001) y recambio de aire constante.

Descripción general del experimento

Los 20 animales se aleatorizaron en dos grupos de 10 animales cada uno:

- 1) Grupo control (GC2)
- 2) Grupo con hiperglucemia postprandial inducida por estreptozocina (GH2).



Posterior a la aleatorización, a los animales de GH2 se administró una dosis única de 30 mg de estreptozocina (STZ) / kg de peso corporal por vía intraperitoneal diluidos previamente en búfer de citrato 0.1 M con pH 4.5; a las ratas asignadas al GC1 se les administró únicamente el búfer de citrato 0.1 M con pH 4.5. Durante los días posteriores se les suministró agua purificada y dieta estándar para roedores. La glucosa en ayuno y la respuesta glucémica postprandial se evaluó a los 7 días de la administración de STZ. Después de la confirmación de la hiperglucemia postprandial, se procedió a la administración aguda de los tratamientos de prueba ajustados al peso corporal y diluidos en agua mediante una cánula orogástrica de 18-20 G, para realizar la prueba de tolerancia al almidón de 120 minutos, por punción caudal de cada rata:

- 1) ANB (Almidón nativo de banano).
- 2) Harina de banano.
- 3) Amioca.
- 4) HM1 (Hi-Maize 260).
- 5) HM2 (Hi-Maize 260).

La dosis de los tratamientos se ajustó a 1 g de almidón resistente y 1.135 g de almidón digerible, ajustados al peso corporal. La cantidad de AR y AD para cada tratamiento se ajustó para ser similar entre los tratamientos ANB, HB, HM1 y HM2 (Tabla 2). El volumen total a administrar en cada uno de los grupos fue de 8 mL/kg de peso. Cada animal recibió los cinco tratamientos de manera aleatorizada. La glucosa sanguínea se determinó con un glucómetro FreeStyle Optium Neo (Abbott Diabetes Care) en los siguientes tiempos: basal (tiempo 0), 30, 60, 90 y 120 minutos del periodo postprandial. Al finalizar el experimento, los animales fueron sacrificados en una cámara de CO₂.



Tabla 2. Contenido de los tratamientos de Modelo 2

	Tratamientos				
	Amioca	ANB	HB	HM1	HM2
Almidón nativo de banano (mg)	0	1856	0	0	0
Harina de banano (mg)	0	0	2045	0	0
Hi-Maize (mg)	0	0	0	3087	2891
Amioca (mg)	1604	1006	1129	0	140
Contenido de almidón					
AR (mg)	0	1000	1000	1000	1000
AD (mg)	1135	1135	1135	1135	1135

Se muestran los pesos de tratamientos por kg de peso corporal de la rata. ANB, almidón nativo de banano; HB, harina de banano; HM, Hi-Maize.

5.6. Efectos del consumo agudo de AR sobre la respuesta metabólica y el apetito en sujetos con sobrepeso u obesidad.

5.6.1. Tipo de estudio

Un estudio clínico, cruzado de tres brazos, ciego simple y controlado se realizó en el Centro de Investigación de DACS UJAT. Todos los participantes consumieron aleatoriamente cada uno de los tres tratamientos en diferentes días y sirvieron como su propio control. Previo a su inclusión en el estudio, cada participante leyó y firmó el consentimiento informado, explicándoles el objetivo y los riesgos potenciales del estudio y resolviendo cualquier duda que presentaron. Todos los participantes fueron notificados de la posibilidad de retirarse del estudio en cualquier momento que lo decidieran.



5.6.2. Participantes

Un total de 22 voluntarios con sobrepeso u obesidad, reclutados mediante publicidad local en la DACS UJAT. Los participantes se seleccionaron basados sobre una revisión médica previa, índices antropométricos y pruebas de laboratorio. Se incluyeron en el estudio a quienes cumplieron con los siguientes criterios de inclusión: individuos con sobrepeso y obesidad ($IMC \geq 25 \text{ kg/m}^2$), aparentemente sanos, con tolerancia a la glucosa normal, edades de 18-30 años, peso estable en los últimos tres meses, sin antecedentes de tabaquismo y sin consumo de suplementos nutricionales durante los seis meses previos al estudio. Se excluyeron quienes presentaron antecedentes de enfermedad gastrointestinal, alcoholismo, cirugía de la vesícula biliar, eventos cardiovasculares, alergias alimentarias conocidas; uso de fármacos hipolipemiantes, hipoglucemiantes, psicofármacos o suplementos nutricionales que afectaran el apetito, diagnóstico previo de diabetes o glucemia $\geq 126 \text{ mg/dL}$ detectada al momento de su reclutamiento, enfermedades crónicas o mujeres embarazadas. Los participantes fueron eliminados del estudio si no siguieron las recomendaciones dadas en el consentimiento informado y durante la realización del estudio, si ingirieron algún tratamiento alternativo para el control glucémico, lipémico o del peso corporal o aumentaron el consumo de alimentos ricos en fibra; también se eliminaron del estudio aquellos que presentaron alguna intolerancia a los tratamientos o si decidieron abandonar el estudio.



5.6.3. Diseño y descripción del estudio

Los participantes recibieron uno de tres tratamientos:

- 1) Almidón nativo de banano (ANB).
- 2) Hi-Maize 260 (HM).
- 3) Amioca.

Los tratamientos se asignaron al azar y los participantes desconocieron su composición. A los voluntarios se les pidió que se presentaran en el laboratorio en tres días de prueba separados por al menos una semana de diferencia. Así, los participantes ingirieron todos los tratamientos después de un periodo de lavado. Se les aconsejó que no ingirieran alcohol durante el periodo de pruebas y que no practicaran ejercicio vigoroso por lo menos 24 h antes de cada día de prueba. También, se solicitó que consumieran una cena estándar baja en grasas y fibra en las tres noches anteriores a los días de la prueba de tolerancia a los alimentos (PTA).

El día de la PTA, los participantes acudieron al Centro de Investigación a las 7:00 h después de 12 h de ayuno y fueron entrevistados para verificar su adherencia al protocolo del estudio. La sensación subjetiva se evaluó mediante una EVA considerándose la medición basal (tiempo 0). Inmediatamente después, se insertó un catéter intravenoso en la vena antecubital y se obtuvo una muestra de sangre en ayuno para las mediciones basales. A continuación, los sujetos ingirieron un desayuno rico en grasas que consistió de un sándwich de pan blanco, mayonesa queso tipo manchego, queso panela, queso americano, queso crema y mantequilla, acompañado de una bebida de leche semidescremada y sacarosa. El contenido energético del desayuno



fue de 679 kcal distribuidas en 11% de proteínas, 31% de carbohidratos y 58% de grasas.

El desayuno se consumió dentro de los 15 min posteriores a la extracción de sangre en ayuno. Muestras de sangre venosa se obtuvieron en los siguientes tiempos: 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 240, 300 y 360 min después de la ingesta del desayuno. La aplicación de la encuesta de la EVA para apetito se realizó dos minutos antes de cada muestreo de sangre. Durante la duración de la prueba, los participantes permanecieron dentro del centro de investigación y se les permitió actividades como leer, uso de su computadora, ver televisión o conversar, siempre que la conversación no involucrara temas relacionados con alimentos o comida.

Al finalizar las 6 h de la PTA, se retiró el catéter venoso y, después de 15 min de reposo, se realizó una prueba de ingesta de comida *ad libitum*. Esta comida consistió de una “ensalada de pollo” típica que contenía zanahorias, papas, mayonesa y pollo. La cantidad consumida se calculó restando el peso de la comida sobrante del peso de la porción servida en el plato. El contenido calórico por 100 g de ensalada fue de 197.5 kcal, correspondientes a 12% de proteínas, 34% de carbohidratos y 54% de grasas. Al retirarse, a los participantes se les solicitó que continuaran llevando un registro de los alimentos que consumieran en la cena. Los macronutrientes y el contenido energético fueron calculados por un nutriólogo de acuerdo con el Sistema Mexicano de Alimentos Equivalentes.



5.6.4. Tratamientos

Los participantes recibieron los tres tratamientos en orden aleatorio. La dosis administrada de almidón resistente (20 g/día) se eligió con base en estudios previos realizados en el grupo de investigación y las recomendaciones de ingesta diaria de fibra dietaria para población mexicana. Todos los tratamientos se emparejaron para contener la misma cantidad de almidón disponible (13.3 g) y los tratamientos con ANB y HM se formularon para contener la misma cantidad de almidón resistente (Tabla 3). Para preparar las dosis del tratamiento que contenía únicamente AD y ajustar el AD de ANB se empleó Amioca® (almidón 100% digerible) de Ingredion México S.A. de C.V. (Guadalajara, Jalisco, México). Para preparar HM se utilizó Hi-Maize 260® (60% AR y 40% AD, de acuerdo a las especificaciones del fabricante) de Ingredion México S.A. de C.V. (Guadalajara, Jalisco, México). El ANB utilizado fue el obtenido de acuerdo con el método mencionado previamente. Los tratamientos se disolvieron en un volumen de 200 mL de leche semidescremada, se prepararon en el momento y se administraron junto con el desayuno rico en grasas.

Tabla 3. Contenido de los tratamientos

	Tratamientos		
	Amioca	ANB	HM
Almidón nativo de banano (g)	0	28.6	0
Hi-Maize (g)	0	0	33.3
Amioca (g)	13.3	10.46	0
Contenido de almidón			
AR (g)	0	20	20
AD (g)	13.3	13.3	13.3

ANB, almidón nativo de banano; HB, harina de banano; HM, Hi-Maize.



5.6.5. Evaluación del apetito

Las sensaciones subjetivas de hambre, llenura, saciedad y consumo prospectivo se estimaron mediante la EVA de Flint. Esta escala se compone de una línea horizontal de 10 cm, sin marcas de valores numéricos que puedan interferir con la respuesta de cada individuo. Se midió con una regla desde el extremo considerado como cero, de acuerdo a la pregunta para cada sensación, hasta la marca colocada por el sujeto y se registró ese valor en milímetros.

Para estimar la sensación de hambre, se les preguntó a los participantes: "¿Qué tan hambriento te sientes?" Respondieron en la EVA, donde el extremo negativo correspondía a: "No tengo nada de hambre" hasta el extremo positivo: "Nunca había estado tan hambriento". Para poder estimar la sensación de saciedad, se preguntó: "¿Qué tan satisfecho te sientes?", con respuestas que iban de "Me siento completamente vacío" a "No podría comer otro bocado".

La sensación de llenura se estimó de manera similar: se les preguntó a los sujetos: "¿Qué tan lleno te sientes?" Respondiendo en la EVA con marcas desde 0 que corresponde a "No estoy nada lleno" hasta los 100 mm que corresponden a "Totalmente lleno". La última sensación subjetiva evaluada fue la cantidad de alimento que el sujeto estima que puede consumir (consumo prospectivo). Para evaluar esta sensación, se preguntó "¿Cuánto crees que puedes comer?" y respuestas que iban de "Absolutamente nada" hasta "Bastante".

La prueba de ingesta de alimentos *ad libitum* se realizó al terminar la prueba de tolerancia a los alimentos. Para este propósito se ofreció a cada participante una cantidad abundante de alimento divididas en porciones y se indicó que podían comer



lo que ellos desearan hasta sentirse plenamente llenos. Los participantes consumieron el total de porciones dentro de un periodo de 20 minutos. Durante la primera prueba se permitió la ingesta de agua a libre demanda con los alimentos. Esta cantidad de agua registrada fue la misma que se consumió en las siguientes fases de estudio.

5.6.6. Determinaciones bioquímicas

Las muestras de sangre se recolectaron en tubos BD Vacutainer®, se centrifugaron a 5000 rpm y los sueros se separaron inmediatamente a -70°C hasta el momento de realizar las determinaciones bioquímicas. Las concentraciones séricas de glucosa, colesterol, triglicéridos y colesterol HDL se realizaron utilizando el sistema de autoanalizador de química clínica Architect (Abbott Laboratories, Chicago, IL, EE. UU.). La insulina se midió usando un inmunoensayo de micropartículas quimioluminiscentes en el Analizador de Inmunoensayos IMMULITE 1000 (Siemens Medical Solutions Diagnostics, Los Angeles, CA, USA). La imprecisión del ensayo de insulina fue $<7\%$ del coeficiente de variación total. Todas las muestras fueron analizadas por lotes por el mismo investigador dentro de un único ensayo al final del estudio con el fin de eliminar la variabilidad entre ensayos.



5.7. Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó mediante el software GraphPad Prism versión 8.0 para Windows. La normalidad de la distribución de los valores para cada variable, se evaluó con la prueba de D'Agostino-Pearson. Para una distribución normal se presentaron los datos como media \pm desviación estándar o error estándar, en caso de distribuciones no paramétricas, se presentaron como mediana (percentil 25 y percentil 75). Para comparar los resultados de las puntuaciones de la EVA y de los triglicéridos entre tratamientos, los datos se expresaron como cambios absolutos desde la medición basal (0 min). Los cambios temporales se compararon mediante la prueba de ANOVA de medidas repetidas de dos factores y análisis *post hoc* de Tukey para determinar diferencias entre los tratamientos. Para determinar diferencias en la ingesta calórica ad libitum se usó la prueba de ANOVA de una vía con prueba *post hoc* de Tukey. Valores de $p < 0.05$ se aceptaron como estadísticamente significativos.

5.8. Aspectos éticos

Los experimentos realizados en animales se llevaron a cabo conforme a la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 y la Guía Internacional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio NRC 2002 que determina las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.

Este protocolo se sometió ante la Subcomisión de Medicina y Ciencias de la Salud de la Comisión Institucional de Ética en Investigación de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT) obteniendo el dictamen de aprobación CIEI-0382. La selección e inclusión de los sujetos de estudio se realizó con apego a los principios de la



Declaración de Helsinki (con su última enmienda realizada en el 2013) y del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud. El participante tuvo derecho a decidir participar en el estudio, seguir en él o retirarse en cuanto lo decidiera, por lo que se elaboró un consentimiento informado del estudio, de sus posibles riesgos y beneficios. La información se manejó de forma confidencial y se utilizó única y exclusivamente para fines de investigación del presente estudio. Los nombres, folios u otras formas de posible identificación fueron eliminados de la base de datos y no se hace mención de ellos en los resultados o comunicaciones científicas relacionados con este trabajo.



6. Resultados

6.1. Extracción de almidón nativo y harina de banano (*Musa cavendish AAA*).

El rendimiento de la extracción de ANB fue del 8-10% de cada fruto con cáscara y del 15-18% de la pulpa del banano. El rendimiento de la extracción de harina fue del 15-18% del fruto con cáscara y del 26-30% del obtenido de la pulpa. Tanto el ANB y la harina extraídos del banano presentaron un color marrón claro.

6.2. Caracterización nutricional

Entre los productos evaluados, la harina de banano secada a 65 °C mostró el menor contenido de humedad ($4.30 \pm 0.24\%$), seguido del ANB ($6.38 \pm 0.07\%$) y de la harina de banano secada a 60 °C ($8.39 \pm 0.06\%$); el Hi-Maize 260 y el Amioca presentaron los niveles más elevados de humedad, con $9.01 \pm 0.13\%$ y $9.29 \pm 0.25\%$, respectivamente. Las harinas de banano presentaron un contenido de cenizas ($1.93 \pm 0.01\%$ y $1.84 \pm 0.03\%$) mayor que los almidones: ANB ($0.25 \pm 0.01\%$), Amioca ($0.11 \pm 0.01\%$) y Hi-Maize ($0.11 \pm 0.01\%$). Al medir los niveles de grasas, los productos derivados del banano presentaron los niveles más altos (HB, $0.40 \pm 0.04\%$ y ANB, $0.47 \pm 0.02\%$) en comparación con los productos derivados del maíz (Amioca, $0.09 \pm 0.01\%$ y Hi-Maize, $0.09 \pm 0.004\%$). En el caso de las proteínas, HB mostró los valores más elevados ($4.34 \pm 0.02\%$), ANB presentó aproximadamente la mitad de la proteína presente en la harina ($2.05 \pm 0.08\%$), el HM presentó $1.40 \pm 0.001\%$ y el Amioca mostró la menor cantidad de proteínas con $0.54 \pm 0.03\%$.

6.3. Morfología del gránulo

La microscopía electrónica de barrido mostró que HB presentó gránulos de almidón con tamaños de partícula no uniformes, que oscilaban entre 15.7 y 61.3 μm . Los gránulos grandes eran aplanados y alargados, mientras que los gránulos pequeños eran redondeados. La superficie externa era lisa, sin evidencia de fisuras estructurales, y con presencia de fibra en la microestructura de la harina (Figura 1a). Los gránulos de almidón de ANB presentaron un tamaño entre 7.48 y 56.1 μm y formas alargadas y esferoidales, con presencia escasa de fibras en la microestructura y sin daños estructurales aparentes (Figura 1b).

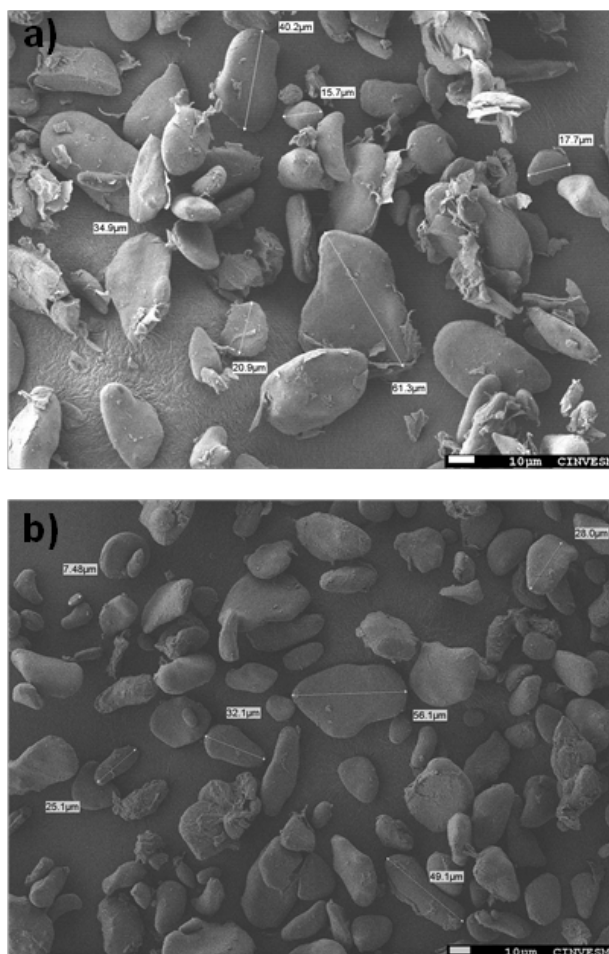


Figura 1. Micrografías electrónicas de barrido de la harina (a) y el almidón nativo (b) de banana (500x, barra de escala=10 μm).



El Amioca contenía una mezcla de gránulos medianos y pequeños (tamaños entre 4.8 y 22.1 μm) agrupados en racimos, los gránulos más grandes tenían una forma poliédrica, mientras que los pequeños eran esféricos e irregulares. Algunos gránulos exhibieron numerosos poros, mientras que otros presentaron superficies irregulares (Figura 2a). Hi-Maize 260 presentó gránulos de almidón con tamaños individuales entre 5.63 y 14.8 μm , de formas esféricas, poligonales y otras formas irregulares con superficie lisa sin cavidades aparentes. Los gránulos pequeños formaron agregados más compactos (Figura 2b).

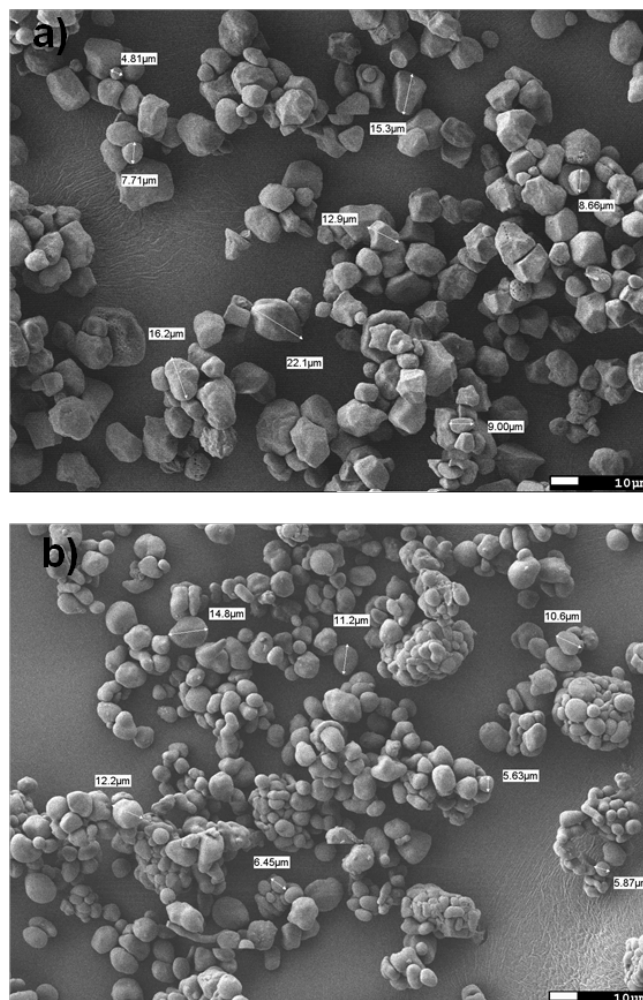


Figura 2. Micrografías electrónicas de barrido de Amioca (a) y Hi-Maize 260 (b) (500x, barra de escala=10 μm).



6.4. Patrones de difracción de rayos X

El patrón de difracción de la HB fue similar al de ANB, con una mezcla de polimorfos tipo A y B, un patrón denominado como tipo C: el patrón de cristalinidad de tipo A, con picos en 2θ a 11.4° y 15.2° , y una estructura cristalina tipo B caracterizada por un pico pequeño en 2θ a 5.7° , un pico prominente a 17.2° y un pico ancho a 22.5° (Figura 3a). HB presentó una cristalinidad relativa de 35% y el ANB de 29.12%. Amioca mostró un patrón de cristalinidad tipo A, con picos pequeños en 2θ a 9.9° y 11.4° , y cuatro picos pronunciados a 15.1° , 17.0° , 17.9° y 22.9° . La cristalinidad relativa fue del 44.4% de Amioca (Figura 3b). Hi-Maize 260 presentó un patrón cristalino de tipo B con picos a 5.3° , 16.9° y 22.5° ; también presentó un patrón estructural de tipo V, con picos a 7.4° , 12.9° y 19.8° . La cristalinidad relativa del Hi-Maize 260 fue del 38% (Figura 3c).

6.5. Propiedades funcionales

De los productos en estudio, Hi-Maize presentó la menor solubilidad, siendo constante desde los 25 a 90°C con $0.24 \pm 0.01\%$. De los productos obtenidos del banano, el ANB mostró la menor solubilidad con 1.59% a los 25°C , aumentando ligeramente a 2.61% a los 70°C y hasta 19.85% a los 90°C (Tabla 4). La HB mantuvo una solubilidad constante con $2.57 \pm 0.14\%$ hasta los 70°C y se duplicó a los 90°C . El Amioca presentó la mayor solubilidad, del 4.06 ± 0.04 a los 25°C , aumentando conforme la temperatura se incrementó, llegando al $13.59 \pm 1.35\%$ a los 90°C . La capacidad de absorción de agua no aumentó en el Hi-Maize 260 con las temperaturas estudiadas; para los productos derivados del banano, la absorción de agua se observó a partir de los 90°C ; en Amioca, la absorción de agua se presentó a partir de los 70°C .



El poder de hinchamiento de los gránulos de almidón para Hi-Maize no se afectó por la temperatura. En el Amioca, el poder de hinchamiento alcanzó niveles de 9.91 ± 0.25 g de agua/g de almidón. En el ANB, el poder de hinchamiento se incrementó a 4.0 g de agua/g de almidón a los 70°C y llegó a 19.0 g de agua/g de almidón a los 90°C , siendo el más alto de todos los productos; en HB, se incrementó a los 8.95 ± 0.39 g de agua/g de almidón a los 90°C , aunque no alcanzó los niveles del ANB.

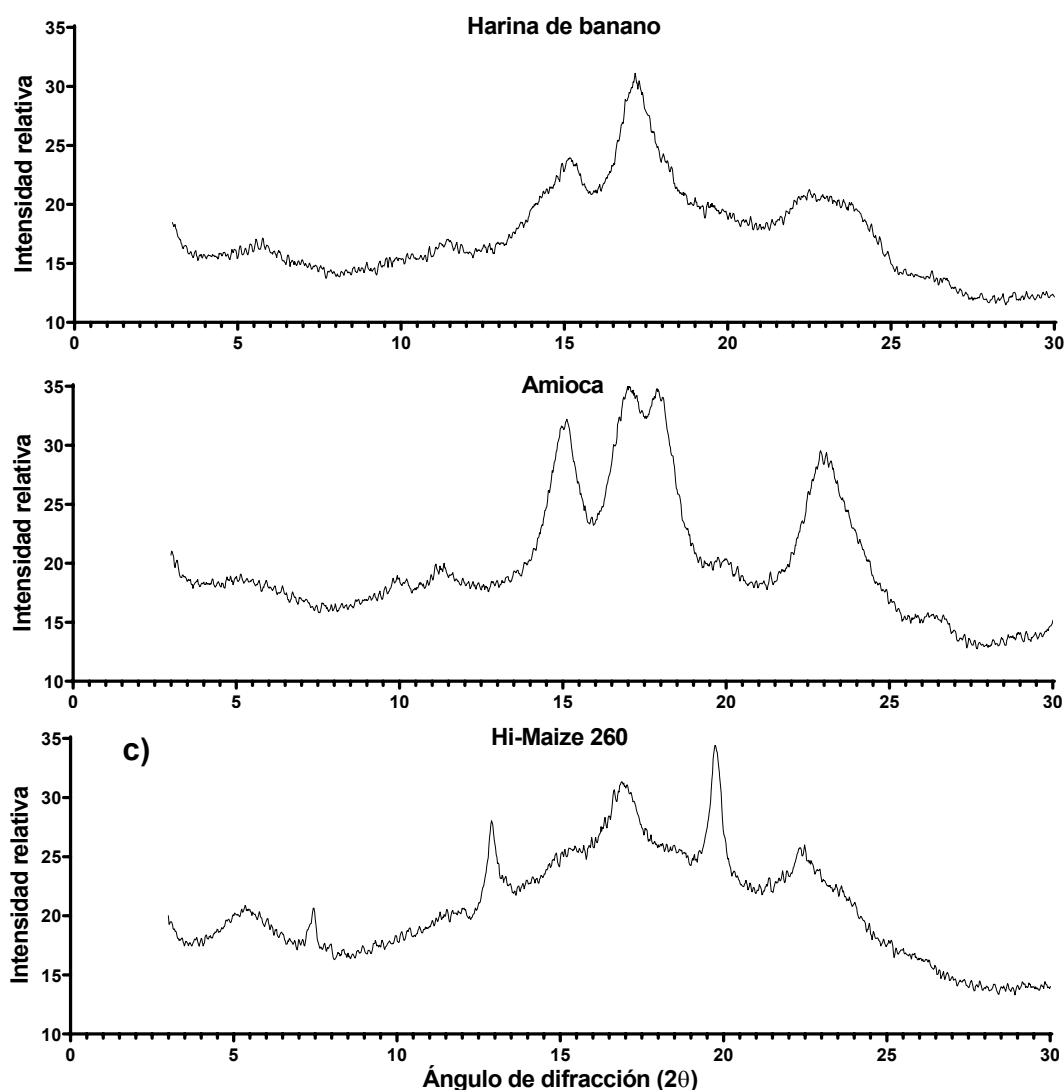


Figura 2. Difractogramas de rayos X de harina de banano (a), Amioca (b) y Hi-Maize 260 (c).



Tabla 4. Propiedades funcionales de los productos en estudio

Propiedad funcional	Productos			
	HB	Amioca	ANB	Hi-Maize 260
Solubilidad (%)				
25 °C	2.43 ± 0.03	4.06 ± 0.04	1.59	0.22 ± 0.01
50 °C	2.22 ± 0.06	5.07 ± 0.04	1.74	0.23 ± 0.00
70 °C	2.57 ± 0.14	6.08 ± 0.11	2.61	0.23 ± 0.01
90 °C	4.95 ± 0.32	13.59 ± 1.35	19.85	0.24 ± 0.01
Absorción de agua (g agua/g gel)				
25 °C	2.79 ± 0.11	2.07 ± 0.00	2.30	2.23 ± 0.14
50 °C	3.00 ± 0.49	2.09 ± 0.03	2.45	2.25 ± 0.03
70 °C	2.61 ± 0.01	7.76 ± 0.72	3.39	2.30 ± 0.06
90 °C	8.50 ± 0.34	9.75 ± 0.11	9.92	2.41 ± 0.09
Poder de hinchamiento (g agua / g almidón)				
25 °C	2.86 ± 0.11	2.07 ± 0.01	4.00	2.24 ± 0.14
50 °C	3.07 ± 0.50	2.09 ± 0.03	4.00	2.26 ± 0.03
70 °C	2.68 ± 0.01	7.85 ± 0.74	7.00	2.31 ± 0.07
90 °C	8.95 ± 0.39	9.91 ± 0.25	19.0	2.42 ± 0.09

Se presentan los valores como media ± desviación estándar. ANB, almidón nativo de banano; HB, harina de banano.

6.6. Digestibilidad *in vitro* del almidón

En la Tabla 5 se muestran los contenidos de las fracciones de almidón digerible y el almidón resistente de los productos estudiados. La HB y el ANB exhibieron los contenidos más bajos de ARD, con $2.0 \pm 0.09\%$ y 4.49% , respectivamente. El Amioca presentó el contenido más alto de ARD (58.09 ± 4.17), aproximadamente el doble de lo encontrado en el Hi-Maize 260. El mismo comportamiento se observó con el ALD, ya que HB y ANB mostraron los valores más bajos; el Amioca presentó el mayor contenido ($27.58 \pm 3.49\%$), seguido por el Hi-Maize 260 con $18.80 \pm 5.68\%$.



Al considerar el AD total, la HB presentó un contenido mayor en comparación con el ANB, sin embargo, el AD total no alcanzó los niveles encontrados en el Amioca y el Hi-Maize. El Amioca mostró niveles del $84.74 \pm 3.87\%$, mientras que el Hi-Maize 260 contenía alrededor de la mitad de su peso como AD. En el caso del AR, tanto HB como ANB exhibieron las cantidades más altas, 56.21% y 59.64% , respectivamente. El Hi-Maize mostró un contenido más bajo de AR (37.25%) en comparación con los productos obtenidos del banano, en tanto que el Amioca presentó un contenido no significativo ($<1\%$). En el caso del almidón total (la suma del almidón digerible más el almidón resistente), el Amioca y Hi-Maize presentaron los contenidos más altos; aunque HB presentó valores por arriba del 80% , el ANB exhibió el contenido más bajo con el 73.66% .

Tabla 5. Fracciones de almidón en los productos en estudio

	HB	Amioca	ANB	Hi-Maize 260
ARD	2.0 ± 0.09	58.09 ± 4.17	4.49	27.80 ± 2.50
ALD	10.49 ± 5.59	27.58 ± 3.49	6.44	18.80 ± 5.68
AD	24.89 ± 0.34	84.74 ± 3.87	19.01	48.92 ± 3.13
AR	56.21 ± 1.54	0.87 ± 0.24	59.64	37.25 ± 2.58
AT (AD+AR)	81.10 ± 1.88	85.61 ± 3.65	73.66	86.17 ± 5.56

Se presentan los valores de media \pm desviación estándar del % cada fracción de almidón contenido en los productos. ANB, almidón nativo de banano; ALD, almidón lentamente digerible; ARD, almidón rápidamente digerible; AT, almidón total; HB, harina de banano.



6.7. Efectos del consumo agudo de AR en roedores

El efecto del almidón resistente sobre la respuesta glucémica en ratas se evaluó en dos modelos diferentes. En el primer modelo, al administrarse estreptozocina (STZ) a una dosis de 40 mg/kg de peso corporal (p. c.), se obtuvo euglucemia en ayuno e hiperglucemia postprandial (de hasta 250 mg/dL) a los 60 min, mientras en el grupo control se reportaron glucemias de hasta 160 mg/dL a los 60 min. Esta respuesta en los animales con STZ simuló el estado glucémico de un humano con glucemia postprandial alterada y que, de acuerdo a la Asociación Americana de la Diabetes, podría diagnosticarse como diabético, aunque se presente una glucemia en ayuno < 126 mg/dL. En el segundo modelo, en un intento por simular una leve intolerancia a la glucosa o resistencia a la insulina, un estado asociado con la obesidad, se disminuyó la dosis de STZ a 30 mg/kg de p. c. Esta dosis incrementó la respuesta glucémica postprandial respecto al grupo control sin ser estadísticamente significativa. En este segundo modelo se administraron únicamente los almidones sin acompañarse de la carga de glucosa, lo que podría explicar parcialmente una menor respuesta glucémica. Como se observa en la Figura 4, en el primer modelo solo se identificaron diferencias significativas en la respuesta glucémica incremental entre el Amioca (40.64 ± 12.84 mg/dL) y los que contenían AR (ANB, 51.07 ± 14.81 mg/dL y HM1, 53.14 ± 19.22 mg/dL) en el grupo control a los 120 min de su administración (Fig. 4a). Al evaluar al grupo de ratas tratadas con STZ (Fig. 4b), se identificó que el ANB produjo una menor respuesta glucémica durante los 120 min (efecto del tratamiento: $F=3.87$, $p=0.033$; para la interacción tiempo \times tratamiento: $F=2.77$, $p=0.008$) se observó que el consumo de ANB



indujo una disminución de la respuesta glucémica postprandial con respecto a HM1 a partir de los 30 min (105.00 ± 40.02 mg/dL vs 126.47 ± 43.94 mg/dL, $p=0.027$), a los 60 min (104.67 ± 51.57 mg/dL vs 147.40 ± 65.20 mg/dL, $p<0.0001$), a los 90 min (91.13 ± 48.59 vs 136.13 ± 72.07 , $p<0.0001$) y hasta los 120 min (60.80 ± 36.49 mg/dL vs 101.73 ± 63.86 mg/dL, $p<0.0001$). Al comparar el efecto del consumo de ANB con el Amioca se pudieron identificar diferencias significativas a los 60 min ($p=0.048$) y 90 min ($p=0.035$) de la prueba. Por último, a pesar de su contenido de almidón resistente, el tratamiento con HM1 presentó una respuesta glucémica mayor que el Amioca desde los 60 min ($p=0.016$), a los 90 min ($p<0.011$) y hasta los 120 min ($p<0.017$).

En el caso del segundo modelo, donde se administraron los almidones sin carga de glucosa, HM2 indujo niveles de glucemia postprandial más elevados en comparación con el HB a los 30 min (39.1 ± 14.59 mg/dL vs 24.2 ± 16.11 mg/dL, $p=0.017$) y a los 60 min (33.9 ± 12.57 mg/dL vs 22.7 ± 18.07 mg/dL, $p=0.045$) y con el ANB a los 30 min (26.5 ± 15.44 mg/dL, $p=0.003$), cómo se observa en la Figura 5a. En las ratas sometidas a tratamiento con estreptozocina (Fig. 5b), a los 30 min de administrar los tratamientos se encontraron diferencias entre el HM1 (48.3 ± 13.85 mg/dL) y los tratamientos con Amioca (35.7 ± 15.52 mg/dL, $p=0.042$) y ANB (34.6 ± 4.50 mg/dL, $p=0.021$). Es importante mencionar que, a pesar de no existir diferencias significativas entre los tratamientos, el almidón resistente de banano de HB y ANB mostró una respuesta glucémica menor en comparación con los demás tratamientos y mantuvo niveles de glucosa más estables a lo largo de las pruebas.

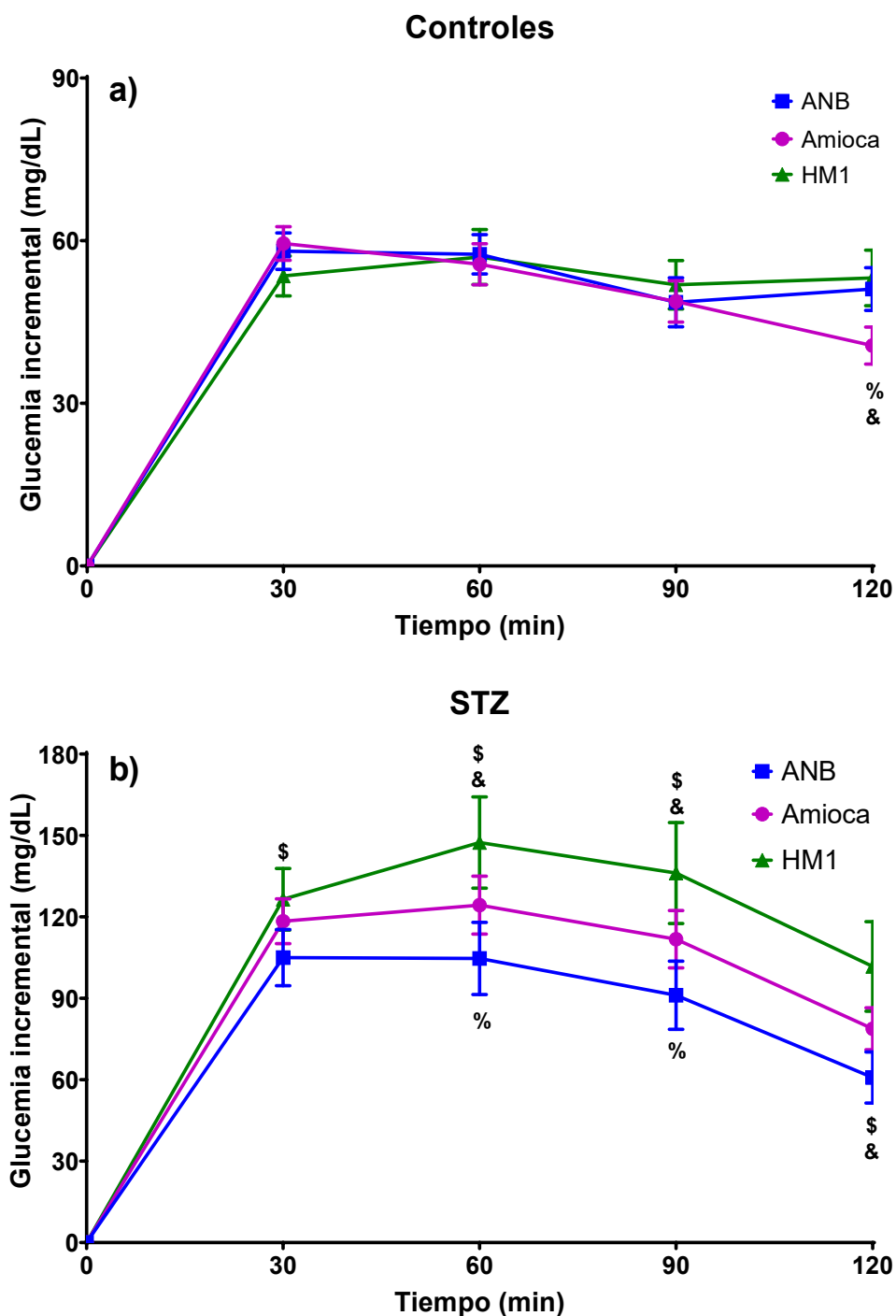


Figura 4. Efectos del almidón resistente con carga de glucosa en ratas. a) control ($n=15$), **b)** tratadas ($n=15$) con STZ (30 mg/kg de peso corporal). ANB, almidón nativo de banano; HB, harina de banano; HM, Hi-Maize. Los datos se analizaron con pruebas de ANOVA de medidas repetidas. $p < 0.05$ se consideró estadísticamente significativo. & HM1 vs Amioca, \$ HM1 vs ANB, % Amioca vs ANB.

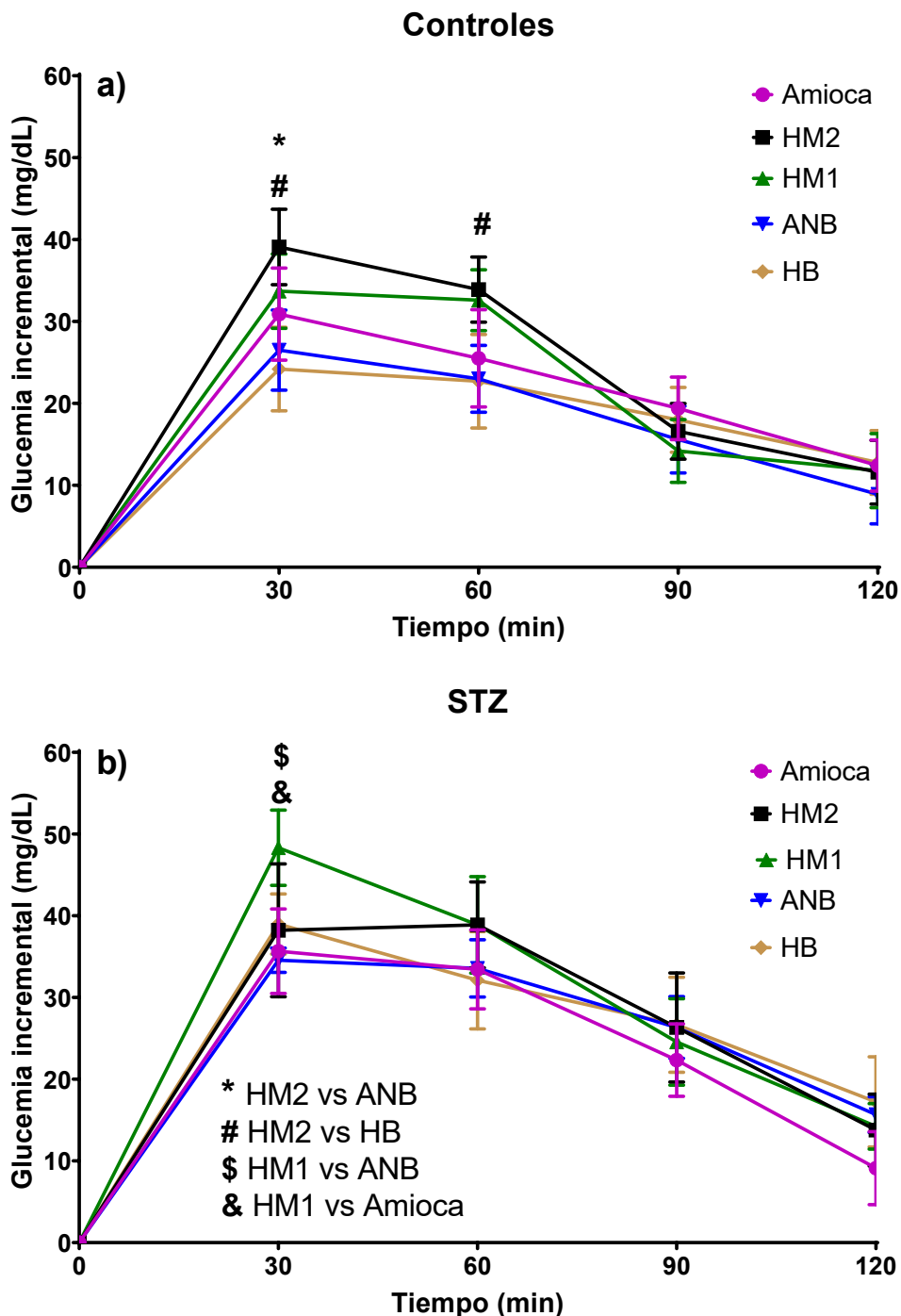


Figura 5. Efectos del almidón resistente sin carga de glucosa en ratas. c) control ($n=10$), b) tratadas ($n=10$) con STZ (30 mg/kg). ANB, almidón nativo de banano; HB, harina de banano; HM, Hi-Maize. Los datos se analizaron con pruebas de ANOVA de medidas repetidas. $p < 0.05$ se consideró estadísticamente significativo. * HM2 vs ANB, # HM2 vs HB, & HM1 vs Amioca, \$ HM1 vs ANB.



6.8. Efecto del consumo agudo de AR en humanos

6.8.1. Características de los participantes

El efecto de la suplementación aguda del almidón resistente sobre el apetito y la respuesta glucémica y lipémica postprandial en humanos con sobrepeso u obesidad se evaluó en 14 individuos que completaron las tres fases del estudio. Las características antropométricas y bioquímicas basales se muestran en la Tabla 6. El 57% de los participantes presentaron obesidad de acuerdo al IMC y el 92.8% presentaron obesidad abdominal (circunferencia de cintura ≥ 90 cm en hombres y ≥ 80 cm en mujeres). Un 57% de los voluntarios presentaron hipertrigliceridemia (≥ 150 mg/dL), que puede considerarse como dislipidemia de acuerdo a los criterios de la OMS.

Tabla 6. Características basales de los participantes del estudio

Característica	Femenino	Masculino	Total
Participantes (n)	11	3	14
Edad (años)	21.18 \pm 0.76	21.67 \pm 1.67	21.29 \pm 0.67
Talla (cm)	156.50 \pm 1.12	175.30 \pm 3.84	160.50 \pm 9.06
Peso corporal (kg)	75.55 \pm 3.80	98.17 \pm 7.85	80.39 \pm 4.17
IMC (kg/m ²)	30.77 \pm 1.29	31.80 \pm 1.21	30.99 \pm 1.03
Adiposidad (%)	36.39 \pm 2.12	27.50 \pm 1.80	34.49 \pm 1.96
PAS (mmHg)	119.50 \pm 3.23	128.30 \pm 11.14	121.40 \pm 3.37
PAD (mmHg)	73.64 \pm 2.55	73.33 \pm 4.10	73.57 \pm 2.12
Cintura (cm)	100.20 \pm 8.13	104.00 \pm 1.53	101.00 \pm 6.34
Cadera (cm)	109.10 \pm 2.64	115.80 \pm 4.32	110.60 \pm 2.32
Relación cintura/cadera	0.93 \pm 0.09	0.90 \pm 0.00	0.92 \pm 0.07
Concentraciones en ayuno:			
Glucosa (mg/dL)	84.27 \pm 1.94	89.00 \pm 5.20	86.00 \pm 1.84
Insulina (μ UI/mL)	5.30 (3.62, 9.13)	9.66 (5.54, 38.70)	5.72 (3.86, 10.45)
Triacilglicéridos (mg/dL)	154.0 (91.00, 238.00)	282 (98.00, 441.00)	163.00 (96.25, 249.00)
Colesterol total (mg/dL)	184.5 \pm 11.59	217.7 \pm 27.30	185.90 \pm 9.15
Colesterol-HDL (mg/dL)	48.57 \pm 4.03	38.70 \pm 6.91	48.22 \pm 3.64

Los datos se expresan como media \pm error estándar de la media o mediana (percentiles 25 y 75). HDL, lipoproteína de alta densidad; IMC, índice de masa corporal; PAD, presión arterial diastólica; PAS, presión arterial sistólica.



6.8.2. Respuestas postprandiales

La respuesta glucémica postprandial no mostró efectos de los tratamientos ($p=0.979$), aunque a los 60 min se observó una diferencia significativa entre Amioca y ANB (81.7 ± 14.61 mg/dL vs 91.0 ± 18.69 mg/dL, $p<0.01$). La respuesta insulinémica no se modificó por los tratamientos durante las 6 horas de la prueba (Figura 6). Las respuestas postprandiales de triacilglicéridos, colesterol total y HDL colesterol no se afectaron por los tratamientos (Figura 7), aunque Hi-Maize indujo una disminución en los triacilglicéridos a los 180 min en comparación con Amioca (68.64 ± 54.48 mg/dL vs 106.21 ± 101.75 mg/dL, $p<0.05$).

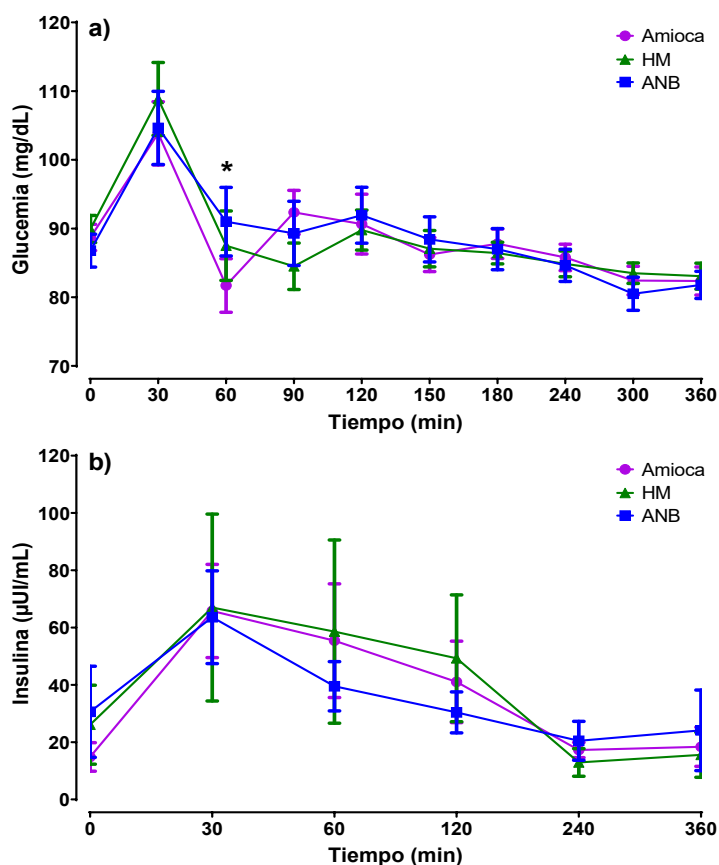


Figura 6. Respuestas glucémica e insulinémica postprandiales. (a) glucemia y (b) insulinemia. Los datos se expresan como media \pm error estándar ($n = 14$). ANB, almidón nativo de banano; HB, harina de banano; HM, Hi-Maize. * $p < 0.01$, ANB vs. Amioca.

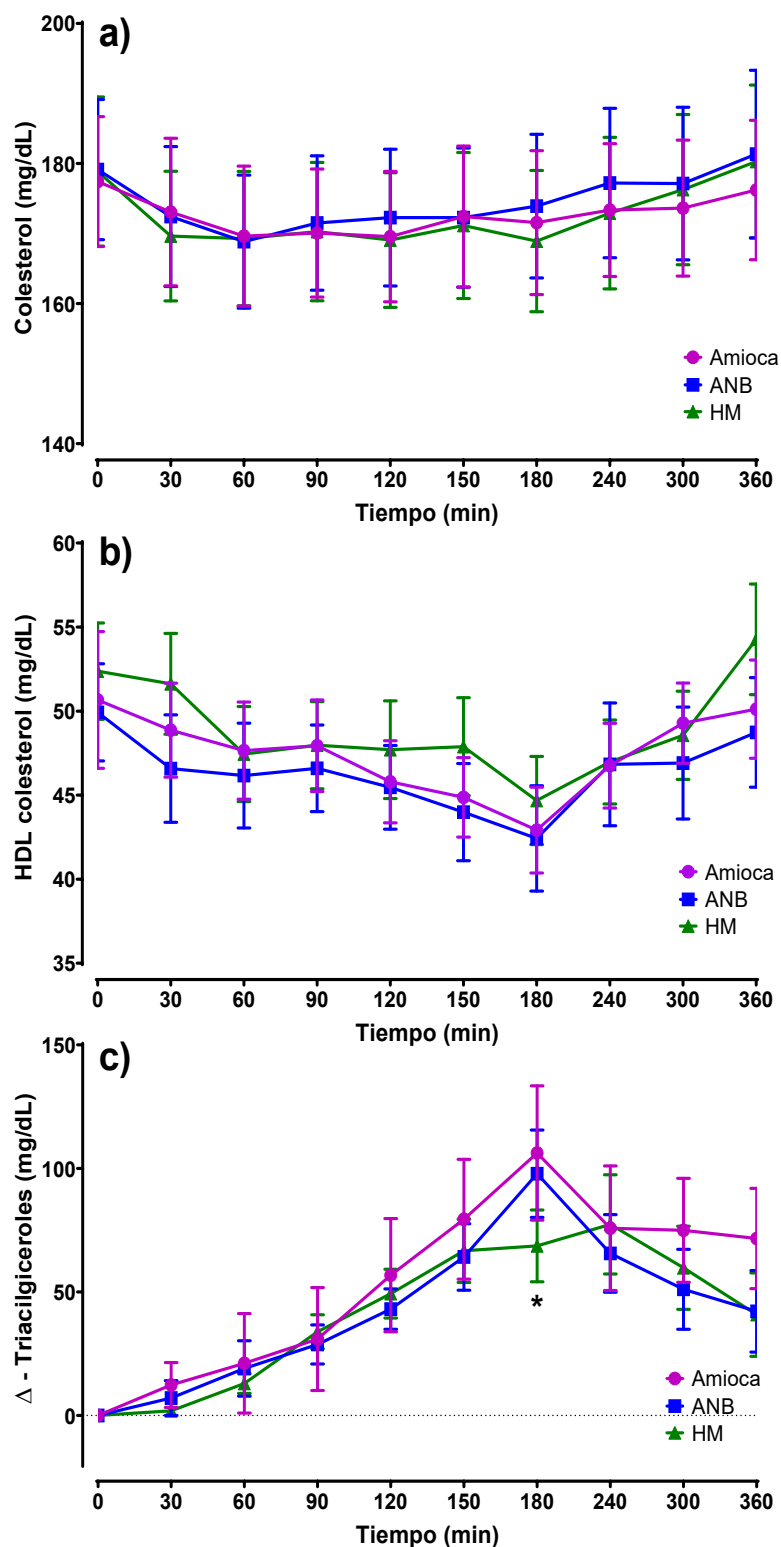


Figura 7. Respuestas lipémicas postprandiales: (a) triacilglicéridos, (b) colesterol y (c) HDL colesterol ($n = 14$). Los valores de triacilglicéridos se expresan como Δ -TAG. ANB, almidón nativo de banano; HB, harina de banano; HM, Hi-Maize. * $p < 0.05$, HM vs. Amioca.



La sensación subjetiva de hambre fue menor desde los 60 min y hasta los 360 min después de la ingestión de HM al compararse con Amioca y el ANB (Figura 8). La sensación de saciedad fue mayor con la ingestión de HM respecto a Amioca y ANB durante la prueba ($F=3.77$, $p=0.036$). No se encontraron diferencias en la sensación de llenura; sin embargo, fue significativamente mayor con la ingestión de HM de los 120 min hasta los 210 min al compararse con HB y Amioca ($p<0.05$). El consumo prospectivo fue menor con el HM comparado con HB y Amioca de los 90 a 240 min de la prueba ($F=3.66$, $p=0.040$). En relación con la ingesta calórica, no se encontraron diferencias significativas en el consumo de calorías durante la prueba de alimentos *ad libitum* o la ingesta de calorías durante la cena (Figura 9).

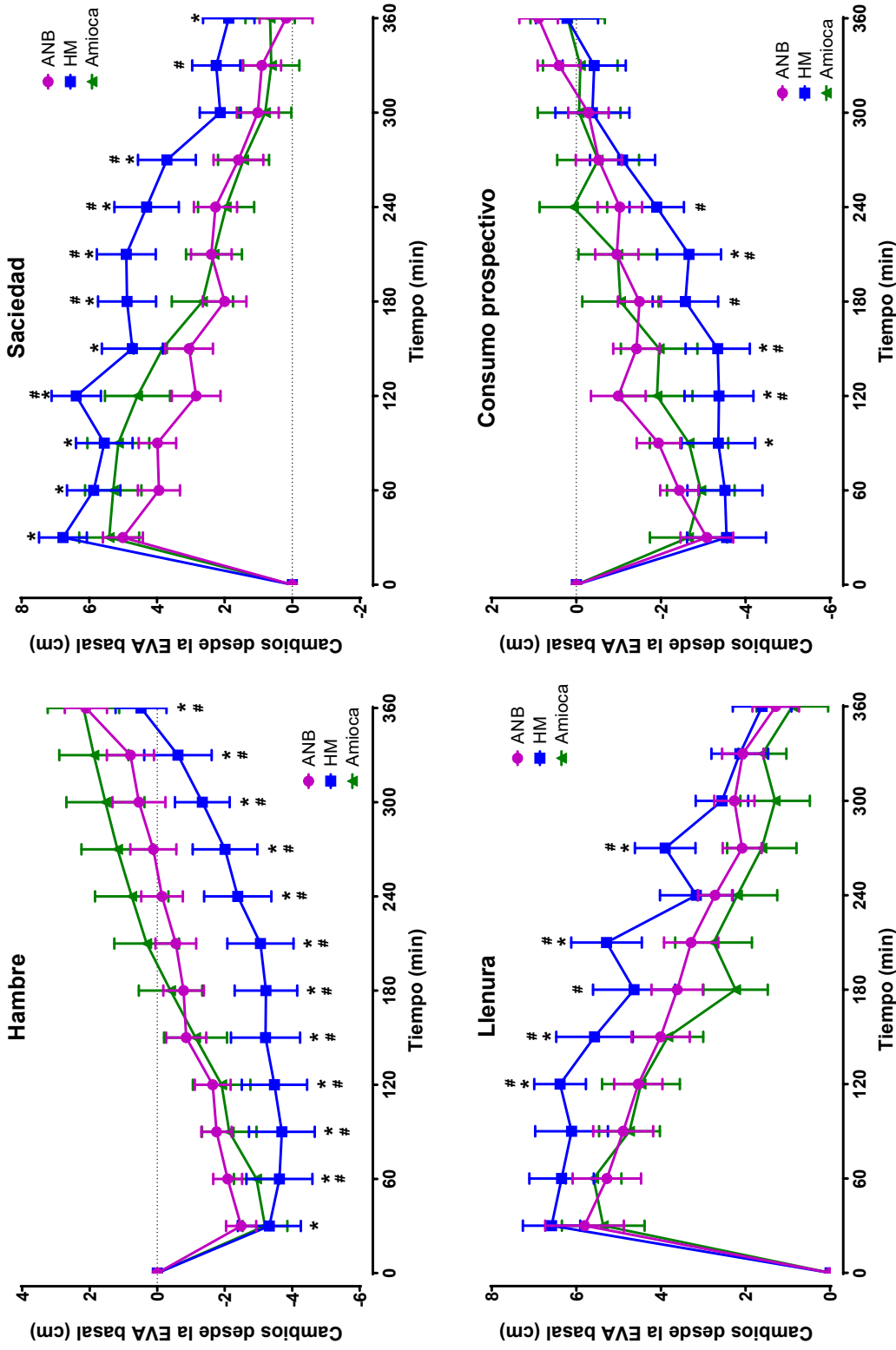
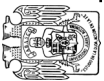


Figura 8. Efectos del almidón resistente sobre las sensaciones subjetivas del apetito. Se muestran la media \pm E.E. de la EVA para cada sensación. **(a)** hambre; **(b)** saciedad; **(c)** llenura y **(d)** consumo prospectivo. Los datos se presentan como cambios respecto a la medición basal ($n = 14$). ANB, almidón nativo de banano; HB, harina de banano; HM, Hi-Maize. * $p < 0.05$, HM vs. ANB; # $p < 0.05$, HM vs. Amioca.

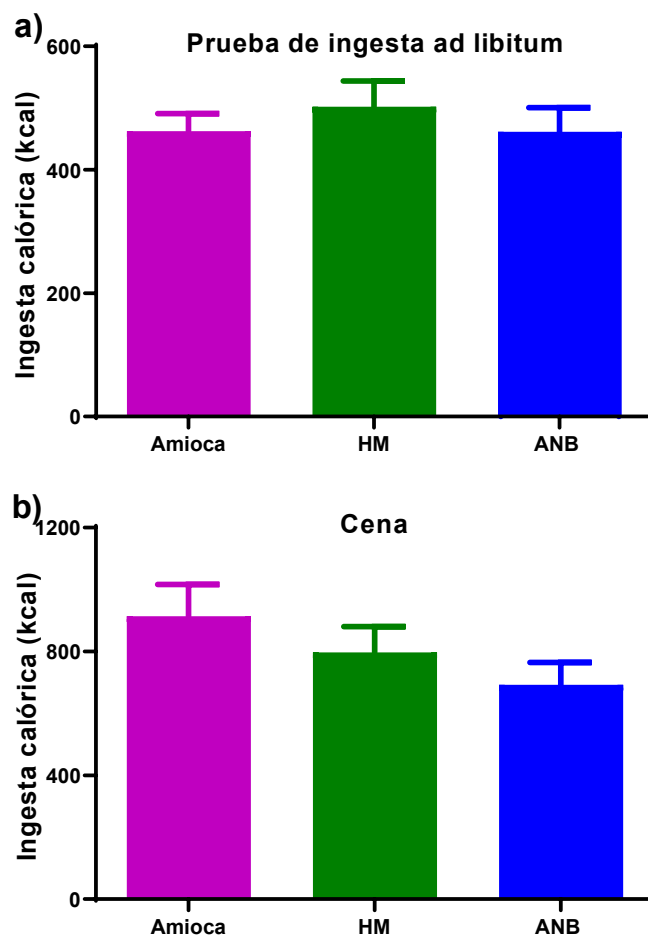


Figura 9. Efectos del almidón resistente sobre la ingesta calórica. Durante la prueba de alimentos *ad libitum* (a) y la cena (b). Los datos se expresan como media \pm E.E. ($n = 14$). ANB, almidón nativo de banano; HM, Hi-Maize.



7. Discusión

En este trabajo se estudiaron las propiedades fisicoquímicas y funcionales del almidón nativo y de la harina de banano, además de evaluarse sus efectos agudos sobre el metabolismo postprandial y el apetito en individuos con sobrepeso y obesidad. A pesar de considerarse que el AR tiene efectos benéficos sobre el metabolismo glucémico y sobre el apetito, no existe un consenso entre los resultados publicados en la literatura científica.

El rendimiento en el proceso de extracción de harina de bananos inmaduros de *Musa acuminata* (grupo AAA) Dwarf cavendish en este estudio fue del 8% al 10% del fruto con cáscara y 15-18% del fruto sin cáscara, fue similar al encontrado por Savlak y cols. (2016). Sin embargo, difiere de lo obtenido por Alkarkhi y cols. (2011), quienes reportan valores menores con un 3.9% del fruto con cáscara y el 15.9% de harina de la pulpa sin cáscara o de lo aislado por Tribess y cols. (2009) o Bezerra y cols. (2013) quienes encontraron un mayor rendimiento con un 33.3% y 38.24-42.04% de harina de la pulpa sin cáscara, respectivamente. Estas diferencias, puede atribuirse a las diversas condiciones de extracción como temperatura, tiempo de secado o características propias de la variedad de banano utilizada (Pelissari y cols., 2012).

Los productos obtenidos del banano presentaron valores de humedad dentro de los límites informados en estudios previos. Hoffmann Sardá y cols. (2016) reportaron un 6.34% de humedad, Tribess y cols. (2009) un 5.3%, Nimsung y cols. (2007) un 6.84% y Menezes y cols. (2011) un 6.9% de agua en la harina extraída, similares a lo encontrado en este trabajo. En contraste, otros estudios han reportado valores menores



con un 4.17 o 3.97% de humedad (da Mota y cols., 2000; Rayo y cols., 2015) o niveles mayores como Campuzano y cols. (2018), que reportaron 10.88% de agua, Savlak y cols. (2016) con 9.07% y Marta y cols. (2019) quienes informaron un 7.46% en harina y un 7.98% en el almidón nativo. La variabilidad entre los resultados podría deberse principalmente a los diferentes métodos de secado que se han empleado, como el uso de flujo de aire caliente con temperaturas variables desde 50°C hasta 70 °C, o el empleo de liofilización para la extracción en frío. Otro posible factor podría ser el tiempo de secado, que varía entre 5 y 48 h, independientemente del método empleado.

Las cenizas contenidas en la harina y el almidón fueron menores a lo reportado en otros estudios; las cenizas menores al 2% indican que el método de extracción permitió obtener un producto con mayor pureza (da Mota y cols., 2000; Nimsung y cols., 2007; Menezes y cols., 2011; Bi y cols., 2017; Campuzano y cols., 2018). Un bajo contenido de grasas (<1%) se encontró en todos los productos de este estudio, similar a lo descrito por otros autores (Hoffmann Sardá y cols., 2016; Bi y cols., 2017; Kumar y cols., 2019) pero menor a lo identificado por otros autores (da Mota y cols., 2000; Menezes y cols., 2011; Campuzano y cols., 2018). En relación al contenido de proteínas, nuestros resultados fueron consistentes con lo descrito por Bi y cols. (2017), por (Campuzano y cols., 2018) y por (Alkarkhi y cols., 2011), entre otros. Esta similitud entre los diferentes trabajos, a pesar de las diferencias en el contenido de humedad, indica que los procesos de extracción no interfieren con la cantidad de proteína presente.

Las imágenes de la microscopía electrónica de barrido son útiles para obtener información sobre la caracterización de los gránulos de almidón, incluyendo el tamaño,



la forma, la integridad estructural, la morfología superficial y la presencia de otros compuestos. La morfología de los gránulos del almidón y harina de banano observada en este trabajo mostró capas delgadas que consistieron en componentes sin almidón; en diversos estudios esto se relaciona con restos de fibras en la microestructura de la harina que probablemente sean las membranas de los amiloplastos (Pelissari y cols., 2012; Rayo y cols., 2015). Las diferentes formas observadas de los gránulos son similares a lo que se reportó en publicaciones previas (Bezerra y cols., 2013; Marta y cols., 2019). Las variaciones en la morfología de los gránulos podrían influir en las propiedades térmicas, la viscosidad y el poder de hinchamiento, aunque se desconoce si son responsables de una mayor resistencia a la degradación enzimática del almidón (Menezes y cols., 2011; Utrilla-Coello y cols., 2014; Kumar y cols., 2019).

Los almidones generalmente presentan tres tipos de patrones de cristalinidad, el tipo A que se encuentra en cereales, el tipo B (en tubérculos, maíz con alto contenido de amilosa y almidón retrógrado) y el tipo C (mezcla de tipos A y B, encontrado en la mayoría de las legumbres) (Sajilata y cols., 2006). Las diferentes variedades de *Musa spp.* muestran patrones de cristalinidad heterogéneos (Kumar y cols., 2019). En este estudio, la cristalinidad de los productos derivados del banano, se relacionó con una estructura de tipo C, con predominio del tipo B, aunque en trabajos previos se ha caracterizado como una estructura de tipo B. Por otro lado, también se ha propuesto que una estructura de tipo B presenta una tasa de resistencia a la digestión mayor que el tipo A (Bi y cols., 2017; Campuzano y cols., 2018). La estructura cristalina depende del tipo de cultivo de banano, condiciones de crecimiento de la planta, técnica de aislamiento y otros factores (de Barros Mesquita y cols., 2016). En la harina de banano



se observó una mayor cristalinidad en comparación con el almidón, sugiriendo que otros componentes diferentes del almidón (lípidos, celulosa o proteínas) contribuyen a la cristalinidad como se describió en otros trabajos (Marta y cols., 2019). También, se ha reportado que una mayor cristalinidad del almidón se asocia con una mayor resistencia a la digestión enzimática (Bi y cols., 2017), sin embargo, en el presente trabajo, una mayor cristalinidad se asoció con una menor resistencia a la digestión, este fue el caso del almidón de Amioca y Hi-Maize en comparación con el almidón y la harina de banano

Los productos obtenidos del banano mostraron una valores bajos de solubilidad, capacidad de absorción de agua y poder de hinchamiento a temperatura ambiente y por debajo de 70 °C. Estas propiedades son buenos indicadores para evaluar la integridad de los gránulos de almidón y están directamente relacionadas con el aumento de la temperatura. La solubilidad se relaciona con la cantidad de sólidos solubles en una muestra seca. El poder de hinchamiento y la capacidad de absorción se relacionan con la viscosidad de la pasta fría, debido a que únicamente los gránulos de almidón dañados absorben agua y se hinchan a temperatura ambiente, aunque también se sugiere que existe una relación con el contenido de amilosa-amilopectina (Waliszewski y cols., 2003; Bezerra y cols., 2013). A partir de los 70 °C, los gránulos se hincharon rápidamente, esto se ha atribuido a la ruptura de los puentes de hidrógeno intermoleculares en las regiones amorfas, permitiendo una absorción de agua irreversible y progresiva (Pelissari y cols., 2012; Campuzano y cols., 2018). Las áreas cristalinas ayudan a mantener la integridad de los gránulos, permitiendo el hinchamiento, pero sin la dispersión completa de la estructura molecular del almidón.



Durante el aumento de la temperatura del almidón en suspensión acuosa, las regiones amorfas absorben rápidamente agua y se hinchan, pero permanecen unidas por las regiones cristalinas (de Barros Mesquita y cols., 2016).

El banano verde es la fuente natural con el mayor contenido de AR y puede utilizarse como un alimento funcional para prevenir alteraciones metabólicas (Ovando-Martinez y cols., 2009). El AR tiene efectos benéficos potenciales, similares a las fibras dietarias, ya que influye benéficamente sobre la microbiota intestinal, la respuesta glucémica y la secreción de insulina o la absorción de lípidos al torrente sanguíneo (Menezes y cols., 2011; Bezerra y cols., 2013). El contenido de almidón total en las harinas y almidones nativos de *Musa Cavendish* varía desde el 68% al 96% de acuerdo a trabajos previos, lo que concuerda con lo obtenido en este estudio. Este rendimiento del almidón está influido por otros componentes presentes en la pulpa del banano inmaduro como la pectina, hemicelulosa y látex. La formación de una matriz de estos productos con interacciones físicas con el almidón disminuye el rendimiento durante la extracción. El contenido de AR en las harinas se ha informado entre el 32.7% y 57.5%, similar a lo encontrado en este trabajo. La proporción de amilosa y amilopectina en el almidón tiene influencia importante sobre las propiedades fisicoquímicas como el hinchamiento, la gelatinización, la posibilidad de retrogradación y su comportamiento durante la ingestión. En este sentido, la cantidad de amilosa presente en la estructura del almidón juega un papel preponderante para la formación de las regiones amorfas de los gránulos, lo que aumenta la digestibilidad; sin embargo, una mayor proporción de amilosa en el almidón también puede aumentar la resistencia a la hidrólisis enzimática (Kumar y cols., 2019).



La digestión de los gránulos de almidón incluye diferentes fases: la difusión de la amilasa hacia el interior de la estructura del almidón favorecida por la porosidad, la adsorción de la enzima al almidón y la hidrólisis. A nuestro conocimiento, solo dos trabajos han reportado el ARD y ALD como fracciones de almidón digerible en la harina y el almidón de banano, con valores similares a lo determinado en este estudio (Utrilla-Coello y cols., 2014; Bi y cols., 2017). El contenido de ARD y ALD en los productos del banano fueron menores que los encontrados en el Amioca y el Hi-Maize, aunque la proporción de ALD respecto al ARD fue mayor en la harina de banano. La diferencia en el ARD y ALD, podría explicarse por la presencia de los poros o canales periféricos vistos en almidones de tipo A, que permiten el paso de la amilasa al interior del almidón, lo cual resulta en una hidrólisis desde el interior hacia el exterior del gránulo. En el caso de almidones tipo B, ante una menor presencia o ausencia de los poros y una cantidad mayor de enlaces α -1,6, la digestión inicia en el exterior del almidón. Inicialmente, Gallant y cols. (1992) reportaron que las regiones amorfas del almidón eran más susceptibles a la digestión enzimática que las regiones cristalinas; pero recientemente, Zhang y cols. (2006) concluyeron que un empaquetamiento más denso de las regiones amorfas deriva en una digestión uniforme de las regiones amorfas y cristalinas. El aumento del contenido de ALD en harinas o almidones enlentece el aumento de la respuesta glucémica postprandial y, además, mantiene niveles sostenidos de glucosa durante más tiempo cuando se compara con productos altos en ARD, como el Amioca, que producen una respuesta rápida y elevada que disminuye rápidamente hasta llegar a niveles por debajo del estado glucémico basal. Las diferentes respuestas metabólicas y hormonales como las incretinas también se modifican de forma similar a la respuesta



glucémica con ALD y difieren de las presentadas al administrar ARD (Lehmann y cols., 2007).

Pocos estudios han investigado los efectos agudos del AR sobre la respuesta glucémica, insulinémica y lipémica postprandiales, además del apetito tanto en modelos animales como en humanos delgados o con sobrepeso u obesidad. Sumado a lo anterior, los resultados son inconsistentes debido a una enorme variabilidad en las dosis administradas, formulaciones, tipos o fuentes de AR y por los diferentes diseños experimentales de cada estudio. Uno de los principales problemas observados en dichos estudios, ha sido la falta de balance entre el contenido de carbohidratos y el contenido energético de los diferentes tratamientos. Otro problema adicional, ha sido que los autores no han confirmado en sus laboratorios el contenido de los productos a ensayar, particularmente en el caso del Amioca que generalmente se emplea como grupo control y que, de acuerdo con las especificaciones del fabricante, contiene un 100% de ADR, sin embargo, con base en nuestros resultados, su contenido es de solo 58%. Este tipo de diferencias ocasiona sesgos que podrían afectar la respuesta de las variables metabólicas estudiadas (Al-Mana y cols., 2018).

En este trabajo, en ambos modelos animales, la administración de AR de banano y de maíz provocaron diferentes comportamientos en sus efectos sobre la glucemia e insulinemia postprandiales en comparación con el Amioca, tanto en ratas sanas como en aquellas con intolerancia a la glucosa inducida por STZ. En ratas sanas, los tratamientos no modificaron la respuesta glucémica postprandial. En las ratas con STZ, el AR de banano disminuyó la respuesta glucémica, mientras que el AR de maíz la aumentó, a pesar de contener la misma cantidad de AD que el Amioca. Cuando se



administró el AR junto con una carga de glucosa, no se observaron los picos de glucosa típicos a los 30 o 60 min, pero los niveles de glucosa se mantuvieron más estables, sin llegar a los niveles basales durante toda la prueba. Cuando se administraron los almidones sin glucosa, HB y ANB no provocaron la aparición de los picos de glucosa durante la prueba de tolerancia al almidón, aunque las concentraciones de glucosa se acercaron a los niveles basales hasta los 120 min.

En los participantes con sobrepeso y obesidad de este estudio, no se afectaron las respuestas glucémica e insulinémica postprandiales durante las 6 h de la prueba, a pesar de lo encontrado en los modelos animales; Kendall y cols. (2010) observaron este mismo comportamiento con dosis de 5, 10 y 15 g de AR disueltos en agua y consumidos con una barra de cereal. También, Al-Mana y cols. (2018) obtuvieron similares respuestas de la glucemia e insulinemia postprandiales, pero diluyeron el AR en leche sin acompañarse de otro alimento. En otro trabajo, se identificaron cambios en ambas respuestas postprandiales con 10 g de AR ingeridos en una cena previa (Johansson y cols., 2013). Estos resultados podrían explicarse por las características de los participantes (individuos que presentan normopeso, sobrepeso, obesidad o diabetes), las diferencias en la formulación (almidón disuelto en leche o agua) y por los tipos de alimentos con los que se realizan las pruebas de tolerancia a los alimentos. Otra posible explicación de la variabilidad de los resultados entre los diferentes trabajos, sería el ajuste de los carbohidratos disponibles en los tratamientos y de las calorías a ingerir, que en nuestro caso, fueron similares entre tratamientos, a diferencia de otros trabajos donde se sustituye el contenido de AD por AR, resultando en cambios en la respuesta glucémica que podrían atribuirse a la diferencia de carbohidratos disponibles,



modificando la ingesta calórica, más que al efecto del AR por sí mismo (Ble-Castillo y cols., 2017; Zafar, 2018). Una dificultad que se observa en los diferentes trabajos donde se estudian los efectos del AR sobre el metabolismo glucémico consiste en igualar el contenido de ARD y el ALD de los productos evaluados, ya que como se demostró en este estudio, cada producto presenta proporciones variables de estas fracciones de AD, lo que podría conducir a diferentes respuestas a pesar de contener la misma cantidad de AD (Bodinham y cols., 2010). Además, los productos con porcentaje alto de AR tienden a presentar incrementos de ALD a expensas del ARD, condicionado por la longitud de las cadenas de amilopectina y la estructura cristalina de los gránulos de almidón.

De acuerdo con los resultados de este estudio, el AR de banano o de maíz no mejoró la respuesta lipémica postprandial. Existen pocos trabajos que evalúan los efectos agudos del AR sobre la lipemia postprandial. En sujetos sanos que recibieron 30 g de almidón crudo de papa conteniendo 19.5 g de AR, no se identificaron modificaciones en el colesterol y los triglicéridos, aunque se observó una reducción en las lipoproteínas ricas en triglicéridos (Marchini y cols., 1998). En otro estudio, Higgins y cols. (2004) reportaron similares resultados con 5 y 10 g de AR de maíz en sujetos sanos, aunque identificaron un aumento de la oxidación de lípidos. Por el contrario, otro trabajo demostró que la ingestión de 5 o 10 g de maltodextrina resistente redujo los niveles de triglicéridos postprandiales en individuos sanos (Kishimoto y cols., 2007). Las diferencias en los resultados de estos estudios pueden explicarse parcialmente por las distintas propiedades fisicoquímicas de los almidones utilizados. El consumo de AR se asocia con un incremento en la producción de AGCC, principalmente el butirato y el



acetato, por la fermentación del AR. La interacción del AR con las sales biliares ionizadas en el intestino delgado se ha propuesto como otro probable mecanismo. Además las estructuras helicoidales del almidón pueden actuar como sitios de unión para las sales biliares (Demigné y cols., 2001).

A pesar de que las sensaciones subjetivas del apetito se vieron afectadas por la ingesta de AR del Hi-Maize en individuos con sobrepeso u obesidad, no se identificaron cambios en la ingesta calórica; este hallazgo concuerda con lo reportado por Kendall y cols. (2010), ya que identificaron mejorías transitorias en las sensaciones subjetivas que no afectaron la ingesta calórica a los 120 min. Por otra parte, Al-Mana y cols. (2018) identificaron una disminución de la ingesta calórica durante 24 h sin que las sensaciones subjetivas del apetito se modificaran con 48 g de AR y 32 g de AD divididos en dos porciones en hombres con sobrepeso y obesidad, lo que concordó con otro estudio con las mismas dosis en adultos sanos (Bodinhm y cols., 2010). Además, Ble-Castillo y cols. (2017) encontraron que la ingesta de 26.8 g de AR de banano disminuyó la ingesta de alimentos pero no tuvo efecto sobre las sensaciones subjetivas del apetito. En otro trabajo, se demostró que dosis más elevadas de AR no afectaron las sensaciones subjetivas ni la ingesta de alimentos durante 4 h (Zafar, 2018). Esta discordancia podría explicarse por la variabilidad en las sensaciones subjetivas entre individuos, indicando que la disminución del hambre y el aumento de la saciedad podrían no relacionarse con una reducción de la ingesta calórica, como se observó en nuestro estudio. Otros mecanismos involucrados en la regulación del apetito, diferentes de la respuesta glucémica, como el retraso del vaciamiento gástrico, el aumento del volumen de las fibras no digeribles en el tracto intestinal, los cambios en las incretinas



y de otras hormonas del apetito pueden ejercer modificaciones en la saciedad o la ingesta de alimentos. La producción de ácidos grasos de cadena corta debido a la fermentación del AR por la microbiota colónica, aumenta la secreción de PYY y GLP-1 en las células del íleon y el colon, activando a su vez neuronas localizadas en el hipotálamo, jugando un rol esencial para el control del apetito (Zhou y cols., 2008; Ble-Castillo y cols., 2017; Amini y cols., 2021). Sin embargo, aunque no se descarta que la fermentación continuó mientras el AR permaneció en el intestino grueso, no se observó un efecto a corto plazo, lo que sugiere que la capacidad del AR para modificar la saciedad y la ingesta calórica podría demostrarse solo con el consumo crónico durante periodos más largos de tiempo. Adicionalmente, durante la administración aguda de AR, las propiedades físicas como la viscosidad y la solubilidad parecen tener un rol más importante que la fermentación colónica para regular la saciedad (Karalus y cols., 2012).

El presente trabajo tiene varias fortalezas. Este es el primer estudio que analiza las características fisicoquímicas del AR de banano y lo relaciona con sus efectos sobre el metabolismo lipémico, glucémico y apetito, demostrando que el AR de diferentes fuentes presenta características distintivas y efectos metabólicos variables. La determinación de las fracciones de ARD, ALD y de AR en los productos estudiados permitió conocer que la respuesta glucémica puede variar en función del contenido de estas fracciones. Por otra parte, se confirmó que las concentraciones de dichas fracciones pueden variar de aquellas reportadas por el fabricante. El diseño cruzado empleado en el experimento en humanos permitió reducir la variabilidad intraindividual ya que cada sujeto recibe cada uno de los tratamientos. A pesar de lo anterior, algunas



limitaciones están presentes. No se realizó la determinación de la proporción de amilosa y amilopectina en los productos estudiados. La falta de determinaciones de los ácidos grasos de cadena corta y las hormonas involucradas en la regulación del apetito. El grupo de humanos estudiados incluyó más mujeres, por lo que los resultados podrían no representar a la población masculina.



8. Conclusiones

- Se demostró que tanto la harina como el almidón nativo obtenidos del banano presentaron un alto contenido de almidón resistente y un bajo contenido de almidón digerible.
- Existen diferencias en las propiedades fisicoquímicas de dos almidones obtenidos de diferentes fuentes y clasificados como AR tipo 2.
- Aunque en roedores se observaron efectos de los tratamientos con AR de diferentes fuentes sobre la respuesta glucémica postprandial, estos no se apreciaron en el estudio realizado en sujetos con sobrepeso u obesidad.
- En este estudio no se encontraron evidencias de que el consumo agudo de AR por individuos con sobrepeso y obesidad produjera cambios sobre el metabolismo glucémico y lipémico postprandiales ni sobre la ingesta calórica.
- Las características fisicoquímicas de los gránulos de almidón influyen sobre las sensaciones subjetivas del apetito en sujetos con sobrepeso u obesidad.



9. Perspectivas

Se sugieren estudios posteriores con diseños apropiados para determinar más específicamente que aspectos de la estructura del almidón están involucradas en los efectos benéficos de esta sustancia.

Es importante conocer la participación de la microbiota intestinal y las hormonas del apetito en los efectos metabólicos del consumo de AR, para esto se recomiendan estudios crónicos en individuos con diferentes alteraciones metabólicas.



10. Referencias bibliográficas

- Adab, P., Pallan, M. y Whincup, P. H. (2018). Is BMI the best measure of obesity? *BMJ*, *360*, k1274.
- Al-Mana, N. M. y Robertson, M. D. (2018). Acute Effect of Resistant Starch on Food Intake, Appetite and Satiety in Overweight/Obese Males. *Nutrients*, *10*(12).
- Alkarkhi, A. F. M., Ramli, S. B., Yong, Y. S. y Easa, A. M. (2011). Comparing physicochemical properties of banana pulp and peel flours prepared from green and ripe fruits. *Food Chem*, *129*(2), 312-318.
- Amini, S., Mansoori, A. y Maghsumi-Norouzabad, L. (2021). The effect of acute consumption of resistant starch on appetite in healthy adults; a systematic review and meta-analysis of the controlled clinical trials. *Clin Nutr ESPEN*, *41*, 42-48.
- Anderson, R. A., Conway, H. F. y Peplinski, A. J. (1970). Gelatinization of Corn Grits by Roll Cooking, Extrusion Cooking and Steaming. *22*(4), 130-135.
- Barquera, S., Hernández-Barrera, L., Trejo-Valdivia, B., Shamah, T., Campos-Nonato, I. y Rivera-Dommarco, J. (2020). Obesity in Mexico, prevalence and trends in adults. *Ensanut 2018-19. Salud Publica Mexico*, *62*(6), 682-692.
- Batterham, R. L., Cowley, M. A., Small, C. J., Herzog, H., Cohen, M. A., Dakin, C. L. y cols. (2002). Gut hormone PYY(3-36) physiologically inhibits food intake. *Nature*, *418*(6898), 650-654.
- Bello-Chavolla, O. Y., Vargas-Vazquez, A., Antonio-Villa, N. E., Del Razo-Olvera, F. M., Elias-Lopez, D., C, A. A.-S. y cols. (2021). A High Incidence of Metabolic Syndrome Traits in Mexicans Points at Obesity-Related Metabolic Dysfunction. *Diabetes Metab Syndr Obes*, *14*, 1073-1082.
- Bertoft, E. (2017). Understanding Starch Structure: Recent Progress. *Agronomy*, *7*(3).
- Bezerra, C. V., Amante, E. R., de Oliveira, D. C., Rodrigues, A. M. C. y da Silva, L. H. M. (2013). Green banana (*Musa cavendishii*) flour obtained in spouted bed – Effect of drying on physico-chemical, functional and morphological characteristics of the starch. *Industrial Crops and Products*, *41*, 241-249.
- Bi, Y., Zhang, Y., Jiang, H., Hong, Y., Gu, Z., Cheng, L. y cols. (2017). Molecular structure and digestibility of banana flour and starch. *Food Hydrocolloids*, *72*, 219-227.
- Ble-Castillo, J. L., Aparicio-Trapala, M. A., Francisco-Luria, M. U., Cordova-Uscanga, R., Rodriguez-Hernandez, A., Mendez, J. D. y cols. (2010). Effects of native banana starch supplementation on body weight and insulin sensitivity in obese type 2 diabetics. *Int J Environ Res Public Health*, *7*(5), 1953-1962.
- Ble-Castillo, J. L., Juarez-Rojop, I. E., Tovilla-Zarate, C. A., Garcia-Vazquez, C., Servin-Cruz, M. Z., Rodriguez-Hernandez, A. y cols. (2017). Acute Consumption of Resistant Starch Reduces Food Intake but Has No Effect on Appetite Ratings in Healthy Subjects. *Nutrients*, *9*(7), 696.
- Ble Castillo, J. L., Aparicio Trápala, M. A., Gómez Vázquez, A., Rodríguez Hernández, A., Mendez, J. D., Juárez Rojop, I. E. y cols. (2012). Potential beneficial effects of native banana starch on glycemia and insulin resistance in obese nondiabetic women. *Interciencia*, *37*(6).
- Bodinham, C. L., Frost, G. S. y Robertson, M. D. (2010). Acute ingestion of resistant starch reduces food intake in healthy adults. *Br J Nutr*, *103*(6), 917-922.
- Bouchard, C. (2008). The magnitude of the energy imbalance in obesity is generally underestimated. *Int J Obes (Lond)*, *32*(6), 879-880.
- Cakir, I. y Nillni, E. A. (2019). Endoplasmic Reticulum Stress, the Hypothalamus, and Energy Balance. *Trends Endocrinol Metab*, *30*(3), 163-176.



- Campuzano, A., Rosell, C. M. y Cornejo, F. (2018). Physicochemical and nutritional characteristics of banana flour during ripening. *Food Chem*, 256, 11-17.
- Chooi, Y. C., Ding, C. y Magkos, F. (2019). The epidemiology of obesity. *Metabolism*, 92, 6-10.
- Cordova Villalobos, J. A. (2016). [Obesity: the real pandemic of the 21(st) century]. *Cir Cir*, 84(5), 351-355.
- da Mota, R. V., Lajolo, F. M., Cordenunsi, B. R. y Ciacco, C. (2000). Composition and Functional Properties of Banana Flour from Different Varieties. *Starch - Stärke*, 52(2-3), 63-68.
- Dainty, S. A., Klingel, S. L., Pilkey, S. E., McDonald, E., McKeown, B., Emes, M. J. y cols. (2016). Resistant Starch Bagels Reduce Fasting and Postprandial Insulin in Adults at Risk of Type 2 Diabetes. *J Nutr*, 146(11), 2252-2259.
- de Barros Mesquita, C., Leonel, M., Franco, C. M. L., Leonel, S., Garcia, E. L. y dos Santos, T. P. R. (2016). Characterization of banana starches obtained from cultivars grown in Brazil. *International Journal of Biological Macromolecules*, 89, 632-639.
- de Lartigue, G., de La Serre, C. B. y Raybould, H. E. (2011). Vagal afferent neurons in high fat diet-induced obesity; intestinal microflora, gut inflammation and cholecystokinin. *Physiol Behav*, 105(1), 100-105.
- Demigné, C., Rémésy, C. y Morand, C. (2001). Resistant starches and lipid metabolism. In Sungsoo C S & Dreher M L (Eds.), *Handbook of Dietary Fiber* (pp. 159). New York, USA: CRC Press.
- Dhital, S., Warren, F. J., Butterworth, P. J., Ellis, P. R. y Gidley, M. J. (2017). Mechanisms of starch digestion by α -amylase—Structural basis for kinetic properties. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 57(5), 875-892.
- Eshghi, F., Bakhshimoghaddam, F., Rasmi, Y. y Alizadeh, M. (2019). Effects of Resistant Starch Supplementation on Glucose Metabolism, Lipid Profile, Lipid Peroxidation Marker, and Oxidative Stress in Overweight and Obese Adults: Randomized, Double-Blind, Crossover Trial. *Clin Nutr Res*, 8(4), 318-328.
- Flint, A., Raben, A., Blundell, J. E. y Astrup, A. (2000). Reproducibility, power and validity of visual analogue scales in assessment of appetite sensations in single test meal studies. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 24(1), 38-48.
- Fock, K. M. y Khoo, J. (2013). Diet and exercise in management of obesity and overweight. *J Gastroenterol Hepatol*, 28 Suppl 4, 59-63.
- Fuentes-Zaragoza, E., Riquelme-Navarrete, M., Sánchez-Zapata, E. y Pérez-Álvarez, J. (2010). Resistant starch as functional ingredient: A review. *Food Research International*, 43(4), 931-942.
- Gadde, K. M., Martin, C. K., Berthoud, H. R. y Heymsfield, S. B. (2018). Obesity: Pathophysiology and Management. *J Am Coll Cardiol*, 71(1), 69-84.
- Gallant, D. J., Bouchet, B., Buleon, A. y Perez, S. (1992). Physical characteristics of starch granules and susceptibility to enzymatic degradation. *Eur J Clin Nutr*, 46 Suppl 2, S3-16.
- Hanashiro, I. (2015). Fine Structure of Amylose. In Y. Nakamura (Ed.), *Starch: Metabolism and Structure* (pp. 41-60). Tokyo: Springer Japan.
- Higgins, J. A., Higbee, D. R., Donahoo, W. T., Brown, I. L., Bell, M. L. y Bessesen, D. H. (2004). Resistant starch consumption promotes lipid oxidation. *Nutr Metab (Lond)*, 1(1), 8.
- Hoffmann Sardá, F. A., de Lima, F. N. R., Lopes, N. T. T., Santos, A. d. O., Tobaruela, E. d. C., Kato, E. T. M. y cols. (2016). Identification of carbohydrate parameters in commercial unripe banana flour. *Food Research International*, 81, 203-209.
- Jane, J.-I. (2006). Current Understanding on Starch Granule Structures. *Journal of Applied Glycoscience*, 53(3), 205-213.



- Jimenez-Dominguez, G., Ble-Castillo, J. L., Aparicio-Trapala, M. A., Juarez-Rojop, I. E., Tovilla-Zarate, C. A., Ble-Castillo, D. J. y cols. (2015). Effects of Acute Ingestion of Native Banana Starch on Glycemic Response Evaluated by Continuous Glucose Monitoring in Obese and Lean Subjects. *Int J Environ Res Public Health*, 12(7), 7491-7505.
- Johansson, E. V., Nilsson, A. C., Ostman, E. M. y Bjorck, I. M. (2013). Effects of indigestible carbohydrates in barley on glucose metabolism, appetite and voluntary food intake over 16 h in healthy adults. *Nutr J*, 12, 46.
- Karalus, M., Clark, M., Greaves, K. A., Thomas, W., Vickers, Z., Kuyama, M. y cols. (2012). Fermentable fibers do not affect satiety or food intake by women who do not practice restrained eating. *J Acad Nutr Diet*, 112(9), 1356-1362.
- Kendall, C. W. C., Esfahani, A., Sanders, L. M., Potter, S. M. y Vidgen, E. (2010). The effect of a pre-load meal containing resistant starch on spontaneous food intake and glucose and insulin responses. *Journal of Food Technology*, 8(2), 67-73.
- Khatun, A., Waters, D. L. E. y Liu, L. (2019). A Review of Rice Starch Digestibility: Effect of Composition and Heat-Moisture Processing. *Starch - Stärke*, 71(9-10), 1900090.
- Kim, K. S., Seeley, R. J. y Sandoval, D. A. (2018). Signalling from the periphery to the brain that regulates energy homeostasis. *Nat Rev Neurosci*, 19(4), 185-196.
- Kishimoto, Y., Oga, H., Tagami, H., Okuma, K. y Gordon, D. T. (2007). Suppressive effect of resistant maltodextrin on postprandial blood triacylglycerol elevation. *Eur J Nutr*, 46(3), 133-138.
- Kumar, P. S., Saravanan, A., Sheeba, N. y Uma, S. (2019). Structural, functional characterization and physicochemical properties of green banana flour from dessert and plantain bananas (*Musa* spp.). *LWT*, 116, 108524.
- Lehmann, U. y Robin, F. (2007). Slowly digestible starch – its structure and health implications: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 18(7), 346-355.
- Leszczynski, W. (2004). Resistant starch - classification, structure, production. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 13(54), 37-50.
- Liu, H., Zhang, M., Ma, Q., Tian, B., Nie, C., Chen, Z. y cols. (2020). Health beneficial effects of resistant starch on diabetes and obesity via regulation of gut microbiota: a review. *Food Funct*, 11(7), 5749-5767.
- Lockyer, S. y Nugent, A. P. (2017). Health effects of resistant starch. *Nutrition Bulletin*, 42(1), 10-41.
- Marchini, J. S., Faisant, N., Champ, M., Ranganathan, S., Azoulay, C., Kergueris, M. F. y cols. (1998). Effects of an acute raw resistant potato starch supplement on postprandial glycemia, insulinemia, lipemia in healthy adults. *Nutrition Research*, 18(7), 1135-1145.
- Marta, H., Cahyana, Y., Djali, M., Arcot, J. y Tensiska, T. (2019). A comparative study on the physicochemical and pasting properties of starch and flour from different banana (*Musa* spp.) cultivars grown in Indonesia. *International Journal of Food Properties*, 22(1), 1562-1575.
- Menezes, E. W., Tadini, C. C., Tribess, T. B., Zuleta, A., Binaghi, J., Pak, N. y cols. (2011). Chemical composition and nutritional value of unripe banana flour (*Musa acuminata*, var. Nanicao). *Plant Foods Hum Nutr*, 66(3), 231-237.
- Miao, M., Jiang, B., Cui, S. W., Zhang, T. y Jin, Z. (2015). Slowly Digestible Starch—A Review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 55(12), 1642-1657.
- Nara, S. y Komiya, T. (1983). Studies on the Relationship Between Water-saturated State and Crystallinity by the Diffraction Method for Moistened Potato Starch. 35(12), 407-410.
- Nimsung, P., Thongngam, M. y Naivikul, O. (2007). Compositions, morphological and thermal properties of green banana flour and starch. *Agriculture and Natural Resources*, 41(5), 324-330.



- Ovando-Martinez, M., Sáyago-Ayerdi, S., Agama-Acevedo, E., Goñi, I. y Bello-Pérez, L. A. (2009). Unripe banana flour as an ingredient to increase the undigestible carbohydrates of pasta. *Food Chem*, 113(1), 121-126.
- Pelissari, F. M., Andrade-Mahecha, M. M., Sobral, P. J. d. A. y Menegalli, F. C. (2012). Isolation and characterization of the flour and starch of plantain bananas (*Musa paradisiaca*). *Starch - Stärke*, 64(5), 382-391.
- Pérez, S. y Bertoft, E. (2010). The molecular structures of starch components and their contribution to the architecture of starch granules: A comprehensive review. *Starch - Stärke*, 62(8), 389-420.
- Raigond, P., Ezekiel, R. y Raigond, B. (2015). Resistant starch in food: a review. *J Sci Food Agric*, 95(10), 1968-1978.
- Rayo, L. M., Chaguri e Carvalho, L., Sardá, F. A. H., Dacanal, G. C., Menezes, E. W. y Tadini, C. C. (2015). Production of instant green banana flour (*Musa cavendishii*, var. Nanicão) by a pulsed-fluidized bed agglomeration. *LWT - Food Science and Technology*, 63(1), 461-469.
- Ren, S. (2017). Comparative analysis of some physicochemical properties of 19 kinds of native starches. *Starch - Stärke*, 69(9-10), 1600367.
- Romieu, I., Dossus, L., Barquera, S., Blottiere, H. M., Franks, P. W., Gunter, M. y cols. (2017). Energy balance and obesity: what are the main drivers? *Cancer Causes Control*, 28(3), 247-258.
- Ross, R., Neeland, I. J., Yamashita, S., Shai, I., Seidell, J., Magni, P. y cols. (2020). Waist circumference as a vital sign in clinical practice: a Consensus Statement from the IAS and ICCR Working Group on Visceral Obesity. *Nat Rev Endocrinol*, 16(3), 177-189.
- Ryan, D. H. y Kahan, S. (2018). Guideline Recommendations for Obesity Management. *Med Clin North Am*, 102(1), 49-63.
- Sajilata, M. G., Singhal, R. S. y Kulkarni, P. R. (2006). Resistant Starch-A Review. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 5(1), 1-17.
- Sathe, S. K., Iyer, V. y Salunkhe, D. K. (1981). Investigations of the Great Northern Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Starch: Solubility, Swelling, Interaction with Free Fatty Acids, and Alkaline Water Retention Capacity of Blends with Wheat Flours. *Journal of Food Science*, 46(6), 1914-1917.
- Savlak, N., Türker, B. y Yeşilkanat, N. (2016). Effects of particle size distribution on some physical, chemical and functional properties of unripe banana flour. *Food Chem*, 213, 180-186.
- Sharma, A., Yadav, B. S. y Ritika. (2008). Resistant Starch: Physiological Roles and Food Applications. *Food Reviews International*, 24(2), 193-234.
- The Decode study group. (1999). Glucose tolerance and mortality: comparison of WHO and American Diabetes Association diagnostic criteria. The DECODE study group. European Diabetes Epidemiology Group. *Diabetes Epidemiology: Collaborative analysis Of Diagnostic criteria in Europe. Lancet*, 354(9179), 617-621.
- Tribess, T. B., Hernández-Urbe, J. P., Méndez-Montealvo, M. G. C., Menezes, E. W., Bello-Pérez, L. A. y Tadini, C. C. (2009). Thermal properties and resistant starch content of green banana flour (*Musa cavendishii*) produced at different drying conditions. *LWT - Food Science and Technology*, 42(5), 1022-1025.
- Tuomilehto, J., Lindstrom, J., Eriksson, J. G., Valle, T. T., Hamalainen, H., Ilanne-Parikka, P. y cols. (2001). Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *N Engl J Med*, 344(18), 1343-1350.



- Utrilla-Coello, R. G., Rodriguez-Huezo, M. E., Carrillo-Navas, H., Hernandez-Jaimes, C., Vernon-Carter, E. J. y Alvarez-Ramirez, J. (2014). In vitro digestibility, physicochemical, thermal and rheological properties of banana starches. *Carbohydr Polym*, 101, 154-162.
- Waliszewski, K. N., Aparicio, M. A., Bello, L. s. A. y Monroy, J. A. (2003). Changes of banana starch by chemical and physical modification. *Carbohydrate Polymers*, 52(3), 237-242.
- Wang, Y., Chen, J., Song, Y. H., Zhao, R., Xia, L., Chen, Y. y cols. (2019). Effects of the resistant starch on glucose, insulin, insulin resistance, and lipid parameters in overweight or obese adults: a systematic review and meta-analysis. *Nutr Diabetes*, 9(1), 19.
- Williams, E. P., Mesidor, M., Winters, K., Dubbert, P. M. y Wyatt, S. B. (2015). Overweight and Obesity: Prevalence, Consequences, and Causes of a Growing Public Health Problem. *Curr Obes Rep*, 4(3), 363-370.
- Wong, T. H. T. y Louie, J. C. Y. (2017). The relationship between resistant starch and glycemic control: A review on current evidence and possible mechanisms. *Starch - Stärke*, 69(7-8), 1600205.
- World Health Organization. (2017). Obesity and Overweight factsheet from the WHO. *Health*.
- Zafar, T. A. (2018). High amylose cornstarch preloads stabilized postprandial blood glucose but failed to reduce satiety or food intake in healthy women. *Appetite*, 131, 1-6.
- Zhang, G., Ao, Z. y Hamaker, B. R. (2008). Nutritional property of endosperm starches from maize mutants: a parabolic relationship between slowly digestible starch and amylopectin fine structure. *J Agric Food Chem*, 56(12), 4686-4694.
- Zhang, G. y Hamaker, B. R. (2009). Slowly digestible starch: concept, mechanism, and proposed extended glycemic index. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 49(10), 852-867.
- Zhang, G., Venkatachalam, M. y Hamaker, B. R. (2006). Structural basis for the slow digestion property of native cereal starches. *Biomacromolecules*, 7(11), 3259-3266.
- Zhou, J., Martin, R. J., Tulley, R. T., Raggio, A. M., McCutcheon, K. L., Shen, L. y cols. (2008). Dietary resistant starch upregulates total GLP-1 and PYY in a sustained day-long manner through fermentation in rodents. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 295(5), E1160-1166.



11. Anexos



Article

Effects of Resistant Starch Ingestion on Postprandial Lipemia and Subjective Appetite in Overweight or Obese Subjects

Carlos García-Vázquez ¹, Jorge L. Ble-Castillo ^{1,*} , Yolanda Arias-Córdova ¹,
Rubén Córdova-Uscanga ¹, Carlos A. Tovilla-Zárate ², Isela E. Juárez-Rojop ¹,
Viridiana Olvera-Hernández ¹, Carina S. Alvarez-Villagomez ³ , Ana M. Nolasco-Coleman ⁴
and Juan C. Díaz-Zagoya ⁵

¹ Centro de Investigación, División Académica de Ciencias de la Salud, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT), Villahermosa, Tabasco 86150, Mexico; gbasecs@hotmail.com (C.G.-V.); yolandaarias@gmail.com (Y.A.-C.); cordova.1@live.com.mx (R.C.-U.); iselajuarezrojop@hotmail.com (I.E.J.-R.); viryolvera11@gmail.com (V.O.-H.)

² División Académica Multidisciplinaria de Comalcalco, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Comalcalco, Tabasco 86650, Mexico; alfonso_tovilla@yahoo.com.mx

³ División Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Villahermosa, Tabasco 86150, Mexico; carina.alvarez@ujat.mx

⁴ Unidad de Medicina Familiar No. 39, Instituto Mexicano del Seguro Social, Villahermosa, Tabasco 86070, Mexico; anacoleman1@hotmail.com

⁵ División de Investigación, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, Cd. de México 04510, Mexico; zagoya@unam.mx

* Correspondence: jblecastillo@hotmail.com; Tel.: +52-993-358-1500 (ext. 6318); Fax: +52-993-351-1132

Received: 4 September 2019; Accepted: 9 October 2019; Published: 11 October 2019



Abstract: Reports surrounding the role of resistant starch (RS) on postprandial lipemia in humans are scarce. The aim of the present study is to examine the effects of resistant starch on the postprandial lipemic response, subjective measures of appetite, and energy intake in overweight and obese subjects. In a randomized, single-blind, crossover study, 14 overweight/obese participants ate a high-fat breakfast (679 kcal, 58% from fat) and a supplement with native banana starch (NBS), high-amylose maize starch (HMS), or digestible maize starch (DMS) on three separate occasions. All supplements provided were matched by the available carbohydrate content, and the RS quantity in NBS and HMS supplements was identical. Appetite was estimated using visual analogue scale (VAS) and an ad libitum test meal. Postprandial glycemia, triglycerides, cholesterol, high-density lipoprotein (HDL) cholesterol, and insulin excursions did not differ between treatments. Subjective appetite measures of satiety were significantly increased after HMS; however, no effects on energy intake were observed during the ad libitum test meal. These findings suggest that a single acute dose of RS cannot be expected to improve postprandial lipemia in subjects with overweight or obesity on a high-fat meal. However, the potential benefits of long-term supplementation should not be ruled out based on these results.

Keywords: indigestible carbohydrates; resistant starch; postprandial lipemia; appetite; triglycerides

1. Introduction

Typically, the conventional risk factors associated with cardiovascular disease are evaluated in a fasting state. However, in recent years, postprandial dysmetabolism which is characterized by abnormal increases in the circulating levels of glucose and lipids, has been identified as an independent

risk factor for the onset of cardiovascular events. In particular, obese individuals develop an increased response in postprandial triglycerides (TG) after the consumption of a fatty meal [1,2]. Acute dietary fiber intake is known to be beneficial for the amelioration of postprandial dysmetabolism; for example, psyllium husk and flaxseeds have been reported to reduce postprandial lipemia in subjects who are overweight and obese [3,4]. Some of the proposed mechanisms are the formation of viscous solutions, delayed gastric emptying, and inhibition of lipase activity [5]. Resistant starch (RS) is considered as a dietary fiber that is resistant to digestion in the small intestine [6], and as such, it is believed to have beneficial effects in reducing postprandial lipemia.

RS is found naturally in various foods and is also available in various industrial preparations. It is classified as type 1, which is inaccessible to digestible enzymes because of certain physical barriers; type 2 RS, which is protected from digestion because of its crystalline structure; type 3 RS, which are retrograded starches formed when starchy foods are cooked and then cooled; type 4 RS, which are chemically modified starches; and type 5 RS, which comprises amylose-lipid complexes and resistant maltodextrin [7]. Unripe bananas are known to be the non-manufactured food with the highest RS content. Native banana starch (NBS) with a high type 2 RS content, is obtained from unripe “Dwarf Cavendish” bananas (*Musa*, AAA Group) which is widely produced in Tabasco, Mexico. On the other hand, high-amylose maize starch (HMS: Hi-Maize 260[®]) is commercially produced and is the most widely studied type 2 RS. Both of these substances are glucose polymers that are resistant to digestion but differ in their physicochemical properties [8,9].

Most studies about the effects of RS on postprandial lipemia have been conducted in animal models, in which amelioration of the condition has been reported after long-term RS treatment [10–12] or acute RS supplementation [13,14]. In humans, studies have mostly focused on the fasting values, based on which it was shown that long-term RS supplementation induces a reduction in total cholesterol and low-density lipoprotein (LDL) cholesterol, but no effects were observed on fasting TG [15]. In contrast, some studies about postprandial lipemia in humans have reported that long-term supplementation of RS has no beneficial effects [16–19]. Thus, the findings of the published studies are inconsistent; additionally, there is a paucity of studies on the effects of acute supplementation of RS on postprandial lipemia [20,21]. The present study seeks to fill in the gap and contribute to the literature on this topic.

The aim of the present study is to determine the acute effects of RS from the two above mentioned sources (NBS and HMS) on postprandial lipemia, appetite sensations, and caloric intake in subjects with overweight or obesity. We hypothesized that RS supplementation reduces postprandial lipemia and has a positive influence on subjective appetite scores.

2. Materials and Methods

2.1. Participants

This study was authorized by the Ethics Committee of the Juarez Autonomous University of Tabasco (Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT)), and was conducted in accordance with the tenets of the Declaration of Helsinki and guidelines for the protection of human subjects under research. Participants were recruited through locally advertising in the Health Sciences Department (División Académica de Ciencias de la Salud) of the UJAT. The purpose and potential risks of the study were explained to the volunteers before the written informed consent was obtained from each subject. All participants were notified of the possibility of withdrawing from the experimental protocol at any time they choose. Volunteers did not receive an honorarium to participate in this study.

A total of 22 overweight or obese participants ($BMI \geq 25 \text{ kg/m}^2$), between the ages of 18 and 30 years, were included (Figure 1). Those with a history of gastrointestinal disease or alcoholism, gallbladder surgery, cardiovascular events, use of lipid-lowering medication or dietary supplements known to affect appetite, a diagnosis of diabetes or fasting glycemia $\geq 126 \text{ mg/dL}$, chronic diseases such as liver and renal disorders as well as those that were pregnant or under psychiatric treatment, were

excluded. Participants were selected based on a previous medical check-up, anthropometric indexes, and laboratory tests.

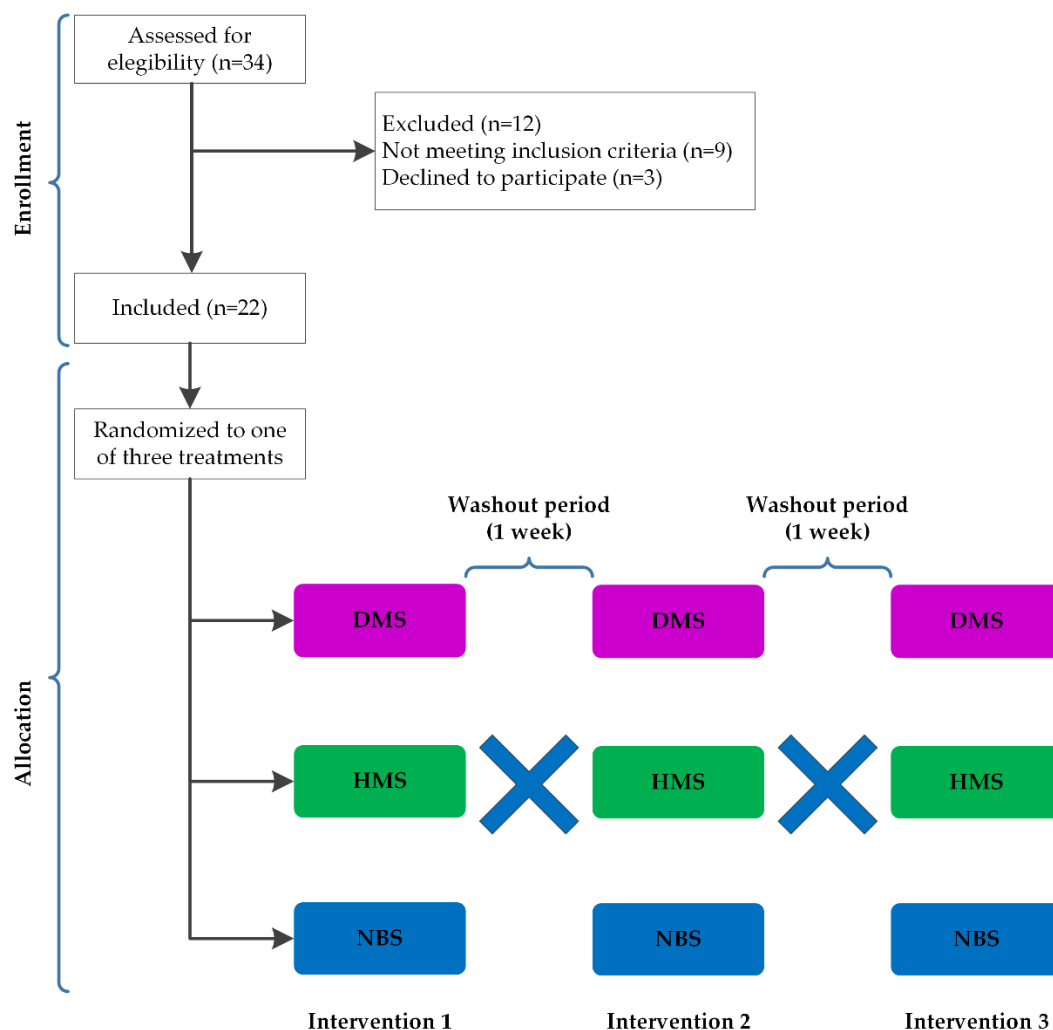


Figure 1. Flow diagram of participants in enrollment, allocation, and experimental phases. A total of 22 volunteers were randomly allocated to receive a high-fat breakfast supplemented with digestible maize starch (DMS), high-amylose maize starch (HMS), or native banana starch (NBS) during one-day intervention. Then, they were crossed over any of the other arms after one-week washout period. The blue crosses represent the crossover design in which the participants cross over from one treatment to another.

2.2. Study Design and Protocol

In a randomized, single-blind, crossover design the subjects received native banana starch (NBS), high-amylose maize starch (HMS), or digestible maize starch (DMS) as a supplement. The supplements were randomly assigned, and the participants were not aware of their composition. They were required to report at the laboratory on three separate test days that were at least one week apart. In this way, the participants were switched throughout to all the treatments after a washout period.

Prior to the test days, subjects were advised not to ingest alcohol and avoid vigorous exercise for 24 h. They were also asked to consume standard low-fat and low-fiber evening meals on the three evenings prior to the meal tolerance test (MTT) days. On the day of the treatment, the participants arrived at the research center at 7:00 am after 12 h of fasting and were interviewed to verify that they had adhered to the protocol. Appetite sensation was assessed using a visual analogue scale (VAS; time point 0). Then, an i.v. catheter was inserted into the antecubital vein, and fasting blood sample

was obtained. At following, the subjects ate a high-fat breakfast consisting sandwich made of white bread, mayonnaise, Manchego-type cheese, Panela cheese, American cheese, cream cheese, and butter, accompanied with a beverage of semi-skimmed cow's milk and sucrose. The energy content of the breakfast was 679 kcal distributed as 11 E% protein, 31 E% carbohydrates, and 58 E% fat.

The breakfast was consumed within 15 min after the fasting blood was drawn. Additional blood samples were obtained at the following time points: 30, 60, 90, 120, 150, 180, 240, 300, and 360 min after meal. Also, VAS scores were recorded two minutes prior to each blood sampling. During the course of the test, the subjects remained at the research center and were allowed to read, use their computer, watch television, or talk, as long the conversation did not involve the subject of food. At the end of the 6 h MTT, the catheter was removed and, after a 15 min rest, an ad libitum test meal was provided. This meal consisted of a typical "chicken salad" containing carrots, potatoes, mayonnaise, and chicken. The quantity consumed was calculated by subtracting the portion left on the plate from the portion served. The caloric content per 100 g of salad was 197.5 kcal, corresponding to 12 E% protein, 34 E% carbohydrates, and 54 E% fat. The participants were asked to continue to keep a record of the food they consumed at dinner time. In all cases, the macronutrients and energy content were calculated by a nutritionist according to the Mexican System of Food Equivalents (Sistema Mexicano de Alimentos Equivalentes (SMAE)) [22].

2.3. Treatments

The dose of RS (20 g/day) that was chosen in this study was based on the dose reported in previous studies with NBS by our research group [23,24] and with HMS by others [17]. All treatments were matched for the available carbohydrate content (13.3 g), and the NBS and HMS treatments were formulated to contain the same amount of RS (20 g). To prepare the DMS dose, 13.3 g Amioca® (100% rapidly digestible starch) was weighed out. To prepare the HMS dose, 33.3 g of Hi-Maize®260 (60% type 2 RS and 40% rapidly digestible starch (RDS)) was weighed, comprising 20 g of RS and 13.3 g of RDS. To prepare the NBS dose, 28.6 g of NBS (70% type 2 RS and 10% RDS) and 10.46 g of Amioca® were mixed. All the doses were dissolved in the beverage that was provided along with the high-fat breakfast.

Hi-Maize® and Amioca® were purchased from Ingredion Mexico S.A. de C.V. (Guadalajara, State of Jalisco, Mexico), and NBS was obtained from unripe (green) bananas (*Musa* (AAA group)) Dwarf Cavendish (F) with a physiological age of 15 weeks, which were obtained from a fruit packing plant located at 43.5 Km from the Villahermosa-Teapa highway in the Mexican state of Tabasco. NBS was isolated using a previously described procedure with slight modifications [25].

2.4. Appetite Assessment

To assess appetite sensation, visual analogue scales (VASs) were used. These were all 100 mm in length and anchored with words at each end, expressing the most positive and the most negative rating. Hunger, satiety, fullness, and prospective food consumption were assessed. Questions were asked as follows: (1) How hungry do you feel? (2) How satisfied do you feel? (3) How full do you feel? (4) How much do you think you can eat? Here, satiety is understood as between-meal satiety, which refers to the state of inhibition of eating, and fullness is defined as the sensation of the degree of stomach filling [26]. The use of VASs to assess subjective appetite sensation has been validated for its employment in postprandial single-meal studies [27].

2.5. Biochemical Determinations

Blood samples were centrifuged, and sera were separated to determine the levels of glucose, cholesterol, triglycerides, insulin, and HDL cholesterol. Samples that were not immediately analyzed were stored at $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ for later analysis. Glucose, cholesterol, triglycerides, and HDL cholesterol analyses were performed using the Architect Clinical Chemistry Autoanalyzer System (Abbott Laboratories, Chicago, IL, USA). Insulin was measured using chemiluminescent microparticle immunoassay. Insulin

assay imprecision was <7% of the total coefficient of variation. All samples were batch analyzed by the same researcher within a single assay at the end of the study in order to eliminate interassay variability.

2.6. Statistical Analysis

A total of 13 participants were estimated in the study in order to obtain a power of 0.8 to detect a difference of 30% between supplements on our primary variable plasma triglycerides. The anticipated dropout rate was set to 30%. To compare the results of VAS scores between treatments, the data were expressed as absolute changes (mm VAS) from the baseline (0 min). Data are expressed as mean \pm standard error of the mean (SEM), unless otherwise specified. The D'Agostino-Pearson normality test was performed to assess whether the data were consistent with the Gaussian distribution. Increase in the concentration of postprandial triglycerides (TG) at a determined time point (Δ -TG) was calculated by subtracting the concentration at time 0 from the concentration at other time points. Repeated-measures analysis of variance (ANOVA) of two factors and Tukey post-hoc test were used to evaluate the effect of the treatments, time, and the interaction between the treatments and time. One-way ANOVA with Tukey post-hoc test was employed to compare the energy intake of the same participants under different treatments. Differences were considered statistically significant at $p < 0.05$. Data were processed and analyzed using GraphPad Prism (version 7.00) statistical software (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA).

3. Results

3.1. Characteristics of Participants

Total of 22 subjects were eventually included to take part in this study. However, four volunteers did not start the study; two due to personal issues and the other two because of work time commitments. Three subjects were removed for protocol violations involving alcohol consumption or intense exercise prior to the test days. One participant was unable to provide blood samples. The anthropometric and biochemical characteristics of 14 participants who completed the study are shown in Table 1. Most participants exhibited obesity (8 subjects, 57%) according to the World Health Organization (WHO) classification and 92.8% (13 subjects) had raised waist circumference (men ≥ 90 cm; women ≥ 80 cm) [28]. Also, the majority of them (57%, 8 subjects) had fasting triglyceride levels that were over 150 mg/dL and were considered to have dyslipidemia, according to the WHO classification [29].

3.2. Postprandial Responses

There were no significant differences in the glycemic response among treatments ($p = 0.979$) and in the interaction between time and treatments ($p = 0.083$). However, a significant difference was observed in the time factor ($p < 0.0001$). A reduction in glycemic response was observed after DMS ingestion at 60 min (NBS vs. DMS, $p < 0.01$), although the insulin response was not modified after treatments ($p = 0.629$) (Figure 2). The effect of time on triglyceride response was statistically significant ($p < 0.001$), although the treatments had no effect (Figure 3a). However, at 180 min, a reduction in the triglyceride levels was observed in the HMS group in comparison with DMS group ($p < 0.05$). No statistical differences among treatments were observed in the postprandial cholesterol or HDL cholesterol levels (Figure 3b,c).

Table 1. Baseline characteristics of the study participants.

Characteristic	Female	Male	Total
Subjects (n)	11	3	14
Age (year)	21.18 ± 0.76	21.67 ± 1.67	21.29 ± 0.67
Height (cm)	156.50 ± 1.12	175.30 ± 3.84	160.50 ± 9.06
Body weight (kg)	75.55 ± 3.80	98.17 ± 7.85	80.39 ± 4.17
BMI (kg/m ²)	30.77 ± 1.29	31.80 ± 1.21	30.99 ± 1.03
Fat percentage (%)	36.39 ± 2.12	27.50 ± 1.80	34.49 ± 1.96
SBP (mm Hg)	119.50 ± 3.23	128.30 ± 11.14	121.40 ± 3.37
DBP (mm Hg)	73.64 ± 2.55	73.33 ± 4.10	73.57 ± 2.12
Waist (cm)	100.20 ± 8.13	104.00 ± 1.53	101.00 ± 6.34
Hip (cm)	109.10 ± 2.64	115.80 ± 4.32	110.60 ± 2.32
Waist to Hip Ratio	0.93 ± 0.09	0.90 ± 0.00	0.92 ± 0.07
Fasting concentrations:			
Glucose (mg/dL)	84.27 ± 1.94	89.00 ± 5.20	86.00 ± 1.84
Insulin (μUI/mL)	5.30 (3.62, 9.13)	9.66 (5.54, 38.70)	5.72 (3.86, 10.45)
Triglycerides (mg/dL)	154.0 (91.00, 238.00)	282 (98.00, 441.00)	163.00 (96.25, 249.00)
Total cholesterol (mg/dL)	184.5 ± 11.59	217.7 ± 27.30	185.90 ± 9.15
HDL cholesterol (mg/dL)	48.57 ± 4.03	38.70 ± 6.91	48.22 ± 3.64

Data are expressed as mean ± standard error of the mean (SEM) or median (25th and 75th percentiles). BMI, body mass index; DBP, diastolic blood pressure; HDL, high-density lipoprotein; SBP, systolic blood pressure.

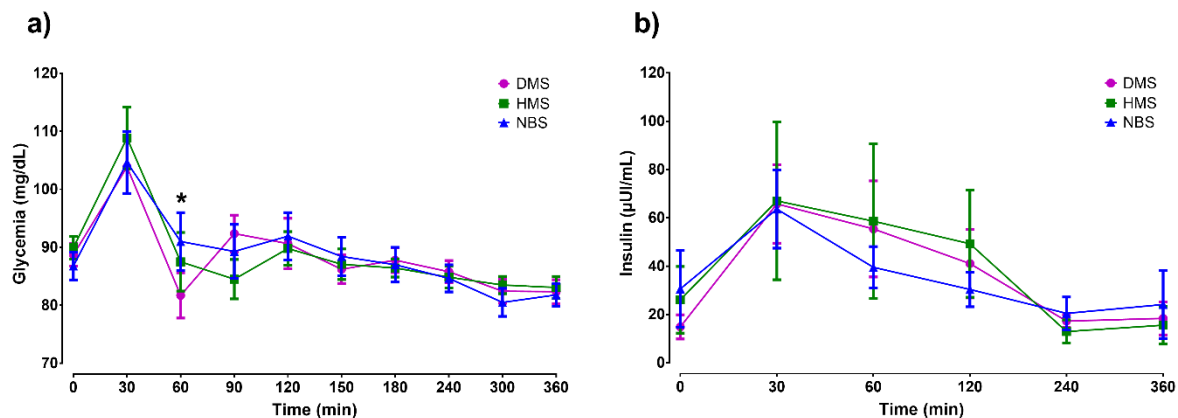


Figure 2. Postprandial responses of (a) glycemia and (b) insulin. The basal concentrations and the concentrations following ingestion of breakfast and treatments are shown. Data are expressed as mean ± SEM ($n = 14$). Comparisons are based on two-way repeated-measures ANOVA and the Tukey post-hoc test. * $p < 0.01$, NBS vs. DMS.

3.3. Subjective Appetite Measures

The VAS measurements are illustrated in Figure 4. Hunger sensation was significantly lower after HMS than after DMS and NBS ingestion ($F = 2.32$, $p = 0.0006$ for time × treatment interaction) from the 60 min time point until the end of the test. Satiety sensation was significantly higher after HMS than after DMS ($F = 3.77$, $p = 0.036$ for treatment effect; $F = 1.76$, $p = 0.017$ for interaction time × treatment). No significant differences were found for fullness (treatment effect: $F = 2.70$, $p = 0.860$, interaction: $F = 1.05$, $p = 0.404$). However, fullness was significantly higher after HMS, particularly from 120 to 210 min compared to DMS and NBS ($p < 0.05$). Prospective consumption was significantly lower after HMS, compared to DMS and NBS (Treatment effect: $F = 3.66$, $p = 0.040$, Interaction time × treatment $F = 1.24$, $p = 0.208$). In particular, it was significantly lower from 90 to 240 min ($p < 0.05$). Statistically significant effects of time on hunger, satiety, fullness, and prospective consumption were observed ($p < 0.0001$ in all cases).

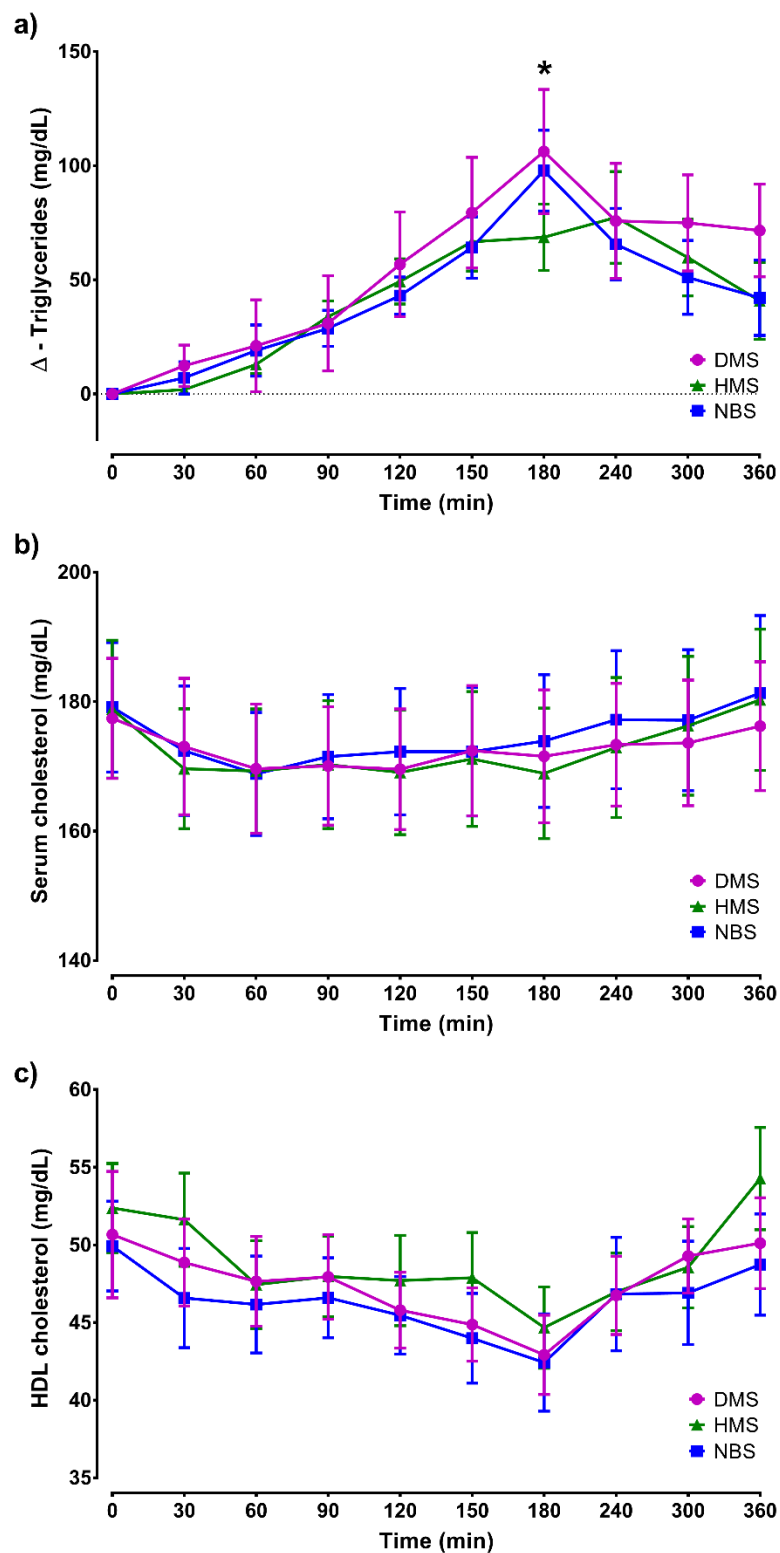


Figure 3. Postprandial lipemic responses: (a) triglycerides, (b) cholesterol, and (c) HDL cholesterol. Basal concentrations and following ingestion of breakfast and treatments are shown. Data are expressed as mean \pm SEM ($n = 14$). The triglyceride values are expressed as Δ -TG. Comparisons are based on two-way repeated-measures ANOVA and the Tukey post-hoc test. * $p < 0.05$, HMS vs. DMS.

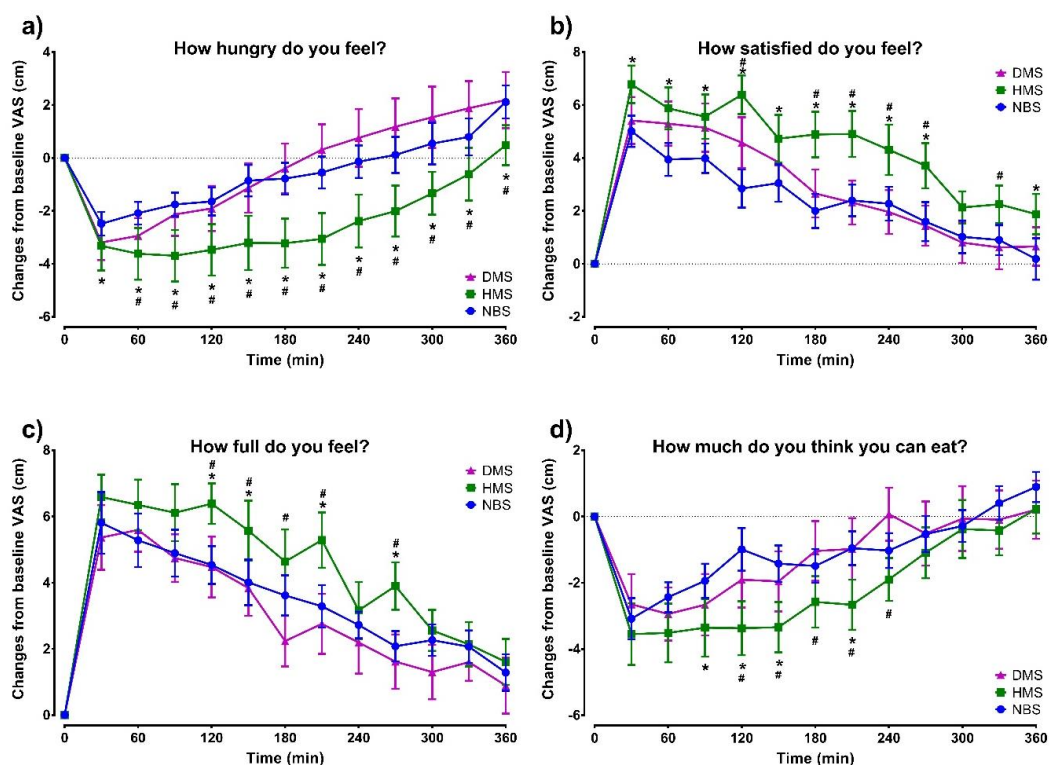


Figure 4. Effects of NBS on the subjective estimation of appetite using the visual analogue scale (VAS). (a) Hunger; (b) satiety; (c) fullness; (d) prospective consumption. Data are presented as changes from baseline and are expressed as mean \pm SEM ($n = 14$). Comparisons are based on two-way ANOVA with the Tukey post-hoc test. * $p < 0.05$, HMS vs. NBS; # $p < 0.05$, HMS vs. DMS.

3.4. Energy Intake

No significant differences were found in caloric intake during the ad libitum test meal ($p = 0.260$) or in caloric intake during dinner ($p = 0.078$) (Figure 5).

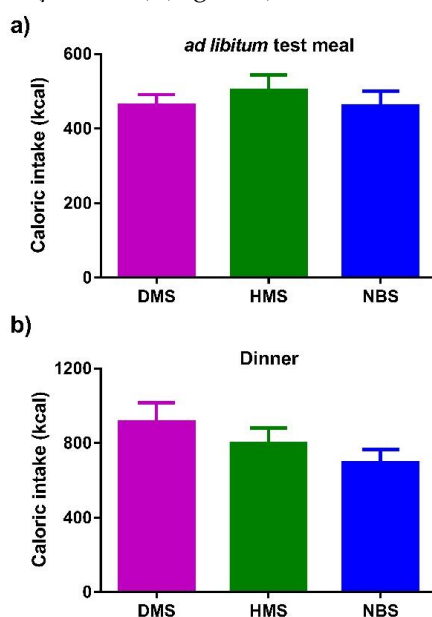


Figure 5. Caloric intake during the (a) ad libitum test meal and (b) dinner. Data for dinner were obtained from food records. Data are expressed as mean \pm SEM ($n = 14$). Comparisons are based on one-way ANOVA with Tukey post-hoc test.

4. Discussion

The aim of this study was to compare the effects of the acute supplementation with RS from banana or maize on the postprandial lipemia, appetite sensation, and caloric intake in a group of young subjects who are overweight or obese.

With regard to glucose metabolism, in this study, acute supplementation with NBS or HMS were not observed to significantly affect postprandial glycemia or insulin. This result was expected, because all the supplements were matched for their available starch content. In previous acute studies where supplements were matched only by starch weight, the administration of RS was found to typically induce a reduction on the glycemic and insulinemic responses. These effects have been observed after providing 40 g of NBS, 50 g of raw potato starch, or 25 g of RS to healthy subjects [30–32]. In these experiments, the effects of RS on glycemia and insulin probably reflected the greater availability of digestible carbohydrates in the control group. However, it is difficult to compare the results of the present study with those from other groups because we used a high-fat breakfast and a longer period of study (6 h MTT) than most other studies, which used a 3 h postprandial period or a 2 h oral glucose tolerance test. In chronic studies, however, in which RS is administered in the long term, the beneficial effect of RS in improving insulin sensitivity have been consistently demonstrated [16,33–36].

Based on the results of the present study, we were not able to prove our hypothesis that supplementation with RS improves postprandial lipemia. As a nonviscous, highly fermentable fiber, it was assumed that RS would act through one of the several mechanisms known, for example, slowing of gastric emptying, reduction in TG hydrolysis, inhibition of pancreatic lipase activity, alterations in micelle formation, and modulation of the intestinal secretion of chylomicrons [37]. However, no effects on postprandial lipemia were observed after both HMS or NBS supplementation. To date, there is a paucity of studies analyzing the effects of acute RS supplementation on postprandial lipemia [20,21]. In one such acute intervention where healthy subjects received a meal supplemented with 30 g raw potato starch containing 19.5 g of RS, postprandial triglycerides, and cholesterol were not modified, although a reduction in triglycerides-rich lipoproteins was observed [20]. In a more recent study, 5 or 10 g of resistant maltodextrin induced a reduction in postprandial triglycerides and insulin in healthy subjects [21]. The differences in the results of these studies may be partially explained by the distinct physicochemical properties of the used substances. That is, raw potato starch is considered as a type 2 resistant starch that is similar to NBS and HMS and is protected from digestion because of its crystalline structure. In contrast, resistant maltodextrin is considered a type 5 starch containing 1–2 and 1–3 glycosidic linkages [7].

With regard to chronic supplementation of RS in humans, most studies have not found a reduction on postprandial lipemia. For example, when RS from high-amylose maize was provided at a dose of 40 g/d for 8 or 12 weeks to subjects with insulin resistance, no effects on postprandial lipemia were observed [17]. Additionally, when a 4-week diet rich in arabinoxylan (16 g/d) and RS (21 g/d) was administered to patients with metabolic syndrome, no effects were found [18]. These, and other reports in which no effect of RS supplementation on postprandial lipemia was observed in humans [19,38], appear to contrast findings from animal models wherein a reduction in postprandial lipemia was frequently observed [10,12,13,39–45].

The present results showed that all measures of subjective appetite were positively affected by the HMS supplement but not by the NBS supplement, even though the quantity of RS in these supplements was the same (20 g) and both of them are classified as type 2 starches. Differences in structure that determine the properties such as crystallinity, amylose to amylopectin ratio, and granular structure could have influenced these different effects on appetite sensations. Despite this, it is difficult to explain these findings. In a previous study from our group, acute NBS supplementation did not affect appetite sensation, even though a reduction in the ad libitum caloric intake was observed at the time of the test meal [30]. However, comparison between these studies should be done carefully; in that study, the supplements were dissolved in water and not matched for available carbohydrates. Also,

no high-fat breakfast was provided to the participants and the MTT lasted only 3 h. On the other hand, the inconsistency between appetite sensation scores and energy intake deserves further elucidation.

This study has several strengths. First, this is to our knowledge the first study to investigate the effects of two type 2 resistant starches from different sources on postprandial lipemia and appetite. Second, the crossover design reduces the influence of confounding covariates. However, several limitations are also present. First, the study group included more female subjects, so the results may not be representative of the male population. Second, the study sample was relatively small. Although, a sample size calculation was performed, it is possible that a larger sample size may have resulted in a different outcome. Third, Apo B48 and gastrointestinal peptides were not assessed.

5. Conclusions

In conclusion, the findings of the present study indicate that a single acute dose of RS cannot improve postprandial lipemia in subjects who are overweight or obese on a high-fat meal; yet, the potential benefits of long-term supplementation should not be ruled out based on these results. In addition, HMS had significant positive effects on subjective appetite sensations, but there was no associated effect on the ad libitum caloric intake.

Author Contributions: Conceptualization, J.L.B.-C. and C.G.-V.; methodology, A.M.N.-C., V.O.-H., R.C.-U.; formal analysis, C.A.T.-Z. and I.E.J.-R.; investigation, Y.A.-C.; writing—original draft preparation, J.C.D.-Z. and C.S.A.-V.; writing—review and editing, all authors.

Funding: This research received no external funding.

Acknowledgments: Carlos García-Vázquez is a CONACYT fellow (fellowship 744073) and this study was conducted as part of his PhD dissertation. The authors appreciate the cooperation of all the volunteers that participated in this study.

Conflicts of Interest: The authors declare that they have no competing interests.

References

1. O’Keefe, J.H.; Gheewala, N.M.; O’Keefe, J.O. Dietary strategies for improving post-prandial glucose, lipids, inflammation, and cardiovascular health. *J. Am. Coll. Cardiol.* **2008**, *51*, 249–255. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Pappas, C.; Kandaraki, E.A.; Tsirona, S.; Kountouras, D.; Kassi, G.; Diamanti-Kandarakis, E. Postprandial dysmetabolism: Too early or too late? *Hormones (Athens)* **2016**, *15*, 321–344. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Khossousi, A.; Binns, C.W.; Dhaliwal, S.S.; Pal, S. The acute effects of psyllium on postprandial lipaemia and thermogenesis in overweight and obese men. *Br. J. Nutr.* **2008**, *99*, 1068–1075. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Kristensen, M.; Savorani, F.; Christensen, S.; Engelsen, S.B.; Bugel, S.; Toubro, S.; Tetens, I.; Astrup, A. Flaxseed dietary fibers suppress postprandial lipemia and appetite sensation in young men. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* **2013**, *23*, 136–143. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Lairon, D.; Play, B.; Jourdheuil-Rahmani, D. Digestible and indigestible carbohydrates: Interactions with postprandial lipid metabolism. *J. Nutr. Biochem.* **2007**, *18*, 217–227. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Cummings, J.H.; Mann, J.I.; Nishida, C.; Vorster, H.H. Dietary fibre: An agreed definition. *Lancet* **2009**, *373*, 365–366. [[CrossRef](#)]
7. Lockyer, S.; Nugent, A.P. Health effects of resistant starch. *Nutr. Bull.* **2017**, *42*, 10–41. [[CrossRef](#)]
8. Shen, X.; Shang, W.; Strappe, P.; Chen, L.; Li, X.; Zhou, Z.; Blanchard, C. Manipulation of the internal structure of high amylose maize starch by high pressure treatment and its diverse influence on digestion. *Food Hydrocoll.* **2018**, *77*, 40–48. [[CrossRef](#)]
9. Bi, Y.; Zhang, Y.; Jiang, H.; Hong, Y.; Gu, Z.; Cheng, L.; Li, Z.; Li, C. Molecular structure and digestibility of banana flour and starch. *Food Hydrocoll.* **2017**, *72*, 219–227. [[CrossRef](#)]
10. Kumari, S.K.; Thayumanavan, B. Comparative study of resistant starch from minor millets on intestinal responses, blood glucose, serum cholesterol and triglycerides in rats. *J. Sci. Food Agric.* **1997**, *75*, 296–302. [[CrossRef](#)]
11. Han, K.H.; Fukushima, M.; Shimizu, K.; Kojima, M.; Ohba, K.; Tanaka, A.; Shimada, K.; Sekikawa, M.; Nakano, M. Resistant starches of beans reduce the serum cholesterol concentration in rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)* **2003**, *49*, 281–286. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

12. Kim, W.K.; Chung, M.K.; Kang, N.E.; Kim, M.H.; Park, O.J. Effect of resistant starch from corn or rice on glucose control, colonic events, and blood lipid concentrations in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Nutr. Biochem.* **2003**, *14*, 166–172. [[CrossRef](#)]
13. Matsuda, H.; Kumazaki, K.; Otokozawa, R.; Tanaka, M.; Udagawa, E.; Shirai, T. Resistant starch suppresses postprandial hypertriglyceridemia in rats. *Food Res. Int.* **2016**, *89*, 838–842. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Levrat, M.A.; Moundras, C.; Younes, H.; Morand, C.; Demigne, C.; Remesy, C. Effectiveness of resistant starch, compared to guar gum, in depressing plasma cholesterol and enhancing fecal steroid excretion. *Lipids* **1996**, *31*, 1069–1075. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Yuan, H.C.; Meng, Y.; Bai, H.; Shen, D.Q.; Wan, B.C.; Chen, L.Y. Meta-analysis indicates that resistant starch lowers serum total cholesterol and low-density cholesterol. *Nutr. Res.* **2018**, *54*, 1–11. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Bodinham, C.L.; Smith, L.; Thomas, E.L.; Bell, J.D.; Swann, J.R.; Costabile, A.; Russell-Jones, D.; Umpleby, A.M.; Robertson, M.D. Efficacy of increased resistant starch consumption in human type 2 diabetes. *Endocr. Connect.* **2014**, *3*, 75–84. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Robertson, M.D.; Wright, J.W.; Loizon, E.; Debard, C.; Vidal, H.; Shojaee-Moradie, F.; Russell-Jones, D.; Umpleby, A.M. Insulin-sensitizing effects on muscle and adipose tissue after dietary fiber intake in men and women with metabolic syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2012**, *97*, 3326–3332. [[CrossRef](#)]
18. Schioldan, A.G.; Gregersen, S.; Hald, S.; Bjornshave, A.; Bohl, M.; Hartmann, B.; Holst, J.J.; Stodkilde-Jorgensen, H.; Hermansen, K. Effects of a diet rich in arabinoxylan and resistant starch compared with a diet rich in refined carbohydrates on postprandial metabolism and features of the metabolic syndrome. *Eur. J. Nutr.* **2018**, *57*, 795–807. [[CrossRef](#)]
19. Park, O.J.; Kang, N.E.; Chang, M.J.; Kim, W.K. Resistant starch supplementation influences blood lipid concentrations and glucose control in overweight subjects. *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)* **2004**, *50*, 93–99. [[CrossRef](#)]
20. Marchini, J.S.; Faisant, N.; Champ, M.; Ranganathan, S.; Azoulay, C.; Kergueris, M.F.; Piloquet, H.; Krempf, M. Effects of an acute raw resistant potato starch supplement on postprandial glycemia, insulinemia, lipemia in healthy adults. *Nutr. Res.* **1998**, *18*, 1135–1145. [[CrossRef](#)]
21. Kishimoto, Y.; Oga, H.; Tagami, H.; Okuma, K.; Gordon, D.T. Suppressive effect of resistant maltodextrin on postprandial blood triacylglycerol elevation. *Eur. J. Nutr.* **2007**, *46*, 133–138. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Pérez-Lizaur, A.; Palacios-González, B.; Castro-Becerra, A.; Flores-Galicia, I. *Sistema Mexicano de Alimentos Equivalentes (Mexican Equivalent Food System)*, 4th ed.; Fomento de Nutrición y Salud A.C.: México City, México, 2014.
23. Ble-Castillo, J.L.; Aparicio-Trapala, M.A.; Francisco-Luria, M.U.; Cordova-Uscanga, R.; Rodriguez-Hernandez, A.; Mendez, J.D.; Diaz-Zagoya, J.C. Effects of native banana starch supplementation on body weight and insulin sensitivity in obese type 2 diabetics. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2010**, *7*, 1953–1962. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Ble-Castillo, J.L.; Aparicio-Trapala, M.A.; Gomez-Vazquez, A.; Rodriguez-Hernandez, A.; Mendez, J.D.; Juarez-Rojop, I.E.; Aguilar-Mariscal, H.; Ramon-Frias, T.; Diaz-Zagoya, J.C. Potential beneficial effects of native banana starch on glycemia and insulin resistance in obese non-diabetic women. *Interciencia* **2012**, *37*, 470–476.
25. Waliszewski, K.N.; Aparicio, M.A.; Bello, L.S.A.; Monroy, J.A. Changes of banana starch by chemical and physical modification. *Carbohydr. Polym.* **2003**, *52*, 237–242. [[CrossRef](#)]
26. Sorensen, L.B.; Moller, P.; Flint, A.; Martens, M.; Raben, A. Effect of sensory perception of foods on appetite and food intake: A review of studies on humans. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* **2003**, *27*, 1152–1166. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Flint, A.; Raben, A.; Blundell, J.E.; Astrup, A. Reproducibility, power and validity of visual analogue scales in assessment of appetite sensations in single test meal studies. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* **2000**, *24*, 38–48. [[CrossRef](#)]
28. Wall-Medrano, A.; Ramos-Jimenez, A.; Hernandez-Torres, R.P.; Villalobos-Molina, R.; Tapia-Pancardo, D.C.; Jimenez-Flores, J.R.; Mendez-Cruz, A.R.; Murguía-Romero, M.; Gallardo-Ortiz, I.A.; Urquidez-Romero, R. Cardiometabolic risk in young adults from northern Mexico: Revisiting body mass index and waist-circumference as predictors. *BMC Public Health* **2016**, *16*, 236. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. Samson, S.L.; Garber, A.J. Metabolic syndrome. *Endocrinol. Metab. Clin. N. Am.* **2014**, *43*, 1–23. [[CrossRef](#)]

30. Ble-Castillo, J.L.; Juarez-Rojop, I.E.; Tovilla-Zarate, C.A.; Garcia-Vazquez, C.; Servin-Cruz, M.Z.; Rodriguez-Hernandez, A.; Araiza-Saldana, C.I.; Nolasco-Coleman, A.M.; Diaz-Zagoya, J.C. Acute consumption of resistant starch reduces food intake but has no effect on appetite ratings in healthy subjects. *Nutrients* **2017**, *9*, 696. [[CrossRef](#)]
31. Raben, A.; Tagliabue, A.; Christensen, N.J.; Madsen, J.; Holst, J.J.; Astrup, A. Resistant starch: The effect on postprandial glycemia, hormonal response, and satiety. *Am. J. Clin. Nutr.* **1994**, *60*, 544–551. [[CrossRef](#)]
32. Kendall, C.W.; Esfahani, A.; Hoffman, A.J.; Evans, A.; Sanders, L.M.; Josse, A.R.; Vidgen, E.; Potter, S.M. Effect of novel maize-based dietary fibers on postprandial glycemia and insulinemia. *J. Am. Coll. Nutr.* **2008**, *27*, 711–718. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Ble-Castillo, J.L.; Aparicio-Trapala, M.A.; Juarez-Rojop, I.E.; Torres-Lopez, J.E.; Mendez, J.D.; Aguilar-Mariscal, H.; Olvera-Hernandez, V.; Palma-Cordova, L.C.; Diaz-Zagoya, J.C. Differential effects of high-carbohydrate and high-fat diet composition on metabolic control and insulin resistance in normal rats. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2012**, *9*, 1663–1676. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Emilien, C.H.; Hsu, W.H.; Hollis, J.H. Effect of resistant wheat starch on subjective appetite and food intake in healthy adults. *Nutrition* **2017**, *43–44*, 69–74. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Robertson, M.D.; Currie, J.M.; Morgan, L.M.; Jewell, D.P.; Frayn, K.N. Prior short-term consumption of resistant starch enhances postprandial insulin sensitivity in healthy subjects. *Diabetologia* **2003**, *46*, 659–665. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Johnston, K.L.; Thomas, E.L.; Bell, J.D.; Frost, G.S.; Robertson, M.D. Resistant starch improves insulin sensitivity in metabolic syndrome. *Diabet. Med.* **2010**, *27*, 391–397. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
37. Desmarchelier, C.; Borel, P.; Lairon, D.; Maraninchi, M.; Valero, R. Effect of nutrient and micronutrient intake on chylomicron production and postprandial lipemia. *Nutrients* **2019**, *11*, 1299. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. Ells, L.J.; Seal, C.J.; Kettlitz, B.; Bal, W.; Mathers, J.C. Postprandial glycaemic, lipaemic and haemostatic responses to ingestion of rapidly and slowly digested starches in healthy young women. *Br. J. Nutr.* **2005**, *94*, 948–955. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
39. Metzler-Zebeli, B.U.; Eberspacher, E.; Grull, D.; Kowalczyk, L.; Molnar, T.; Zebeli, Q. Enzymatically modified starch ameliorates postprandial serum triglycerides and lipid metabolome in growing pigs. *PLoS ONE* **2015**, *10*, e0130553. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
40. Bronkowska, M.; Orzel, D.; Lozna, K.; Styczynska, M.; Biernat, J.; Gryszkin, A.; Zieba, T.; Kapelko, M. Effect of resistant starch rs4 added to the high-fat diets on selected biochemical parameters in wistar rats. *Rocz. Państwowego Zakładu Hig.* **2013**, *64*, 19–24.
41. Ranhotra, G.S.; Gelroth, J.A.; Leinen, S.D. Hypolipidemic effect of resistant starch in hamsters is not dose dependent. *Nutr. Res.* **1997**, *17*, 317–323. [[CrossRef](#)]
42. Trautwein, E.A.; Forgbert, K.; Rieckhoff, D.; Erbersdobler, H.F. Impact of beta-cyclodextrin and resistant starch on bile acid metabolism and fecal steroid excretion in regard to their hypolipidemic action in hamsters. *Biochim. Biophys. Acta* **1999**, *1437*, 1–12. [[CrossRef](#)]
43. Wahjuningsih, S.B.; Haslina, H.; Marsono, M. Hypolipidaemic effects of high resistant starch sago and red bean flour-based analog rice on diabetic rats. *Mater. Sociomed.* **2018**, *30*, 232–239. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Zhou, Z.; Wang, F.; Ren, X.; Wang, Y.; Blanchard, C. Resistant starch manipulated hyperglycemia/hyperlipidemia and related genes expression in diabetic rats. *Int. J. Biol. Macromol.* **2015**, *75*, 316–321. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Liu, X.; Ogawa, H.; Kishida, T.; Ebihara, K. Hypolipidaemic effect of maize starch with different amylose content in ovariectomized rats depends on intake amount of resistant starch. *Br. J. Nutr.* **2009**, *101*, 328–339. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

