



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACIÓN PARA EL DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL UNIDAD OAXACA

“Efecto de la adición del hongo *Pleurotus agaves* Dennis sobre las propiedades fisicoquímicas y sensoriales de tortillas de maíz azul producidas con nixtamalización ecológica y tradicional”

TESIS

Que para obtener el grado de

**Doctorado en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de Recursos
Naturales**

Presenta

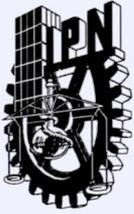
M.C. Daniel Alberto García Rojas

Directoras de tesis

Dra. Aleyda Pérez Herrera

Dra. María Eugenia Meneses Álvarez

Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca, junio 2021



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REGISTRO DE TEMA DE TESIS Y DESIGNACIÓN DE DIRECTOR DE TESIS

Ciudad de México, a de del

El Colegio de Profesores de Posgrado de en su Sesión
(Unidad Académica)

No. celebrada el día del mes de , conoció la solicitud presentada por el alumno:

Apellido Paterno:	García	Apellido Materno:	Rojas	Nombre (s):	Daniel Alberto
--------------------------	---------------	--------------------------	--------------	--------------------	-----------------------

Número de registro:

del Programa Académico de Posgrado:

Referente al registro de su tema de tesis; acordando lo siguiente:

1.- Se designa al aspirante el tema de tesis titulado:

Objetivo general del trabajo de tesis:

2.- Se designa como Directores de Tesis a los profesores:

Director: 2° Director:
No aplica:

3.- El Trabajo de investigación base para el desarrollo de la tesis será elaborado por el alumno en:

que cuenta con los recursos e infraestructura necesarios.

4.- El interesado deberá asistir a los seminarios desarrollados en el área de adscripción del trabajo desde la fecha en que se suscribe la presente, hasta la aprobación de la versión completa de la tesis por parte de la Comisión Revisora correspondiente.

Director(a) de Tesis

Dra. Aleyda Pérez Herrera

2° Director de Tesis (en su caso)

Dra. María Eugenia Meneses Álvarez

Aspirante

García Rojas Daniel Alberto

Presidente del Colegio

Dr. Salvador Isidro Belmonte Jiménez





INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de Santa Cruz Xoxocotlán, Oax., siendo las 11:00 horas del día 29 del mes de junio del 2021 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio del Centro de Investigación Interdisciplinario para el Desarrollo Integral Regional, unidad Oaxaca (CIIDIR UNIDAD OAXACA) para examinar la tesis titulada:

"Efecto de la adición del hongo *Pleurotus agaves* Dennis sobre las propiedades fisicoquímicas y sensoriales de tortillas de maíz azul producidas con nixtamalización ecológica y tradicional"

del alumno:

Apellido Paterno:	García	Apellido Materno:	Rojas	Nombre (s):	Daniel Alberto
-------------------	--------	-------------------	-------	-------------	----------------

Número de registro: A 1 7 0 3 5 7

Aspirante del Programa Académico de Posgrado: Doctorado en Ciencias en Conservación y

Aprovechamiento de Recursos Naturales

Una vez que se realizó un análisis de similitud de texto, utilizando el software antiplagio, se encontró que el trabajo de tesis tiene 9% de similitud. **Se adjunta reporte de software utilizado.**

Después que esta Comisión revisó exhaustivamente el contenido, estructura, intención y ubicación de los textos de la tesis identificados como coincidentes con otros documentos, concluyó que en el presente trabajo **SI** **NO** **SE CONSTITUYE UN POSIBLE PLAGIO.**

JUSTIFICACIÓN DE LA CONCLUSIÓN:

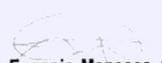
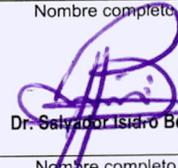
Debido a que el documento presenta un porcentaje de similitud de 9% con otros textos y siendo que la similitud de los textos es principalmente asociada a los antecedentes, metodología y bibliografía

****Es responsabilidad del alumno como autor de la tesis la verificación antiplagio, y del Director o Directores de tesis el análisis del % de similitud para establecer el riesgo o la existencia de un posible plagio.**

Finalmente, y posterior a la lectura, revisión individual, así como el análisis e intercambio de opiniones, los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR** **SUSPENDER** **NO APROBAR** la tesis por **UNANIMIDAD** **MAYORÍA** en virtud de los motivos siguientes:

Debido a que el estudiante presenta una tesis satisfactoria para que realice su examen de grado

COMISIÓN REVISORA DE TESIS

 Dra. Aleyda Pérez Herrera Director de Tesis Nombre completo y firma	 Dr. Cirenio Escamirosa Tinoco Nombre completo y firma	 Dr. Gabino Alberto Martínez Gutiérrez Nombre completo y firma
 Dra. María Eugenia Meneses Álvarez 2° Director de Tesis (en su caso) Nombre completo y firma	 Dra. Patricia Araceli Santiago García Nombre completo y firma	 Dr. Salvador Isidro Belmonte Jiménez Nombre completo y firma PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACIÓN PARA EL DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL Página: Fide 1 UNIDAD OAXACA I.P.N.

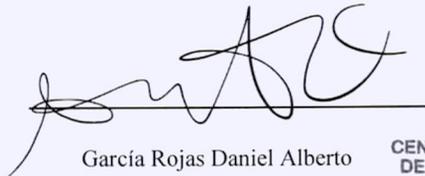


INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de Oaxaca el día 28 del mes de Junio el año 2021, el que suscribe García Rojas Daniel Alberto alumno del Programa de Doctorado en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de Recursos Naturales con número de registro A170357 adscrito al Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca, manifiesta que es autor intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de la Dra. Aleyda Pérez Herrera y la Dra. María Eugenia Meneses Álvarez y cede los derechos del trabajo titulado: **“Efecto de la adición del hongo *Pleurotus agaves* Dennis sobre las propiedades fisicoquímicas y sensoriales de tortillas de maíz azul producidas con nixtamalización ecológica y tradicional”** al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección **dgrgaro@gmail.com** Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.



García Rojas Daniel Alberto



CENTRO INTERDISCIPLINARIO
DE INVESTIGACIÓN PARA EL
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
C.I.I.D.I.R.
UNIDAD OAXACA
I.P.N.

Dedicatoria

A la vida, que me permite valorar y estar con mis seres más amados, mis padres y todas mis personas favoritas, a mi comunidad natal, Santa Lucía del Camino que me ha permitido llevar mis estudios de doctorado a un trabajo comunitario.

Agradecimientos

Al Instituto Politécnico Nacional y al Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional por los recursos y facilidades brindadas para la continuación de mi formación académica.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo económico brindado durante el tiempo de realización de este posgrado.

A mis queridas asesoras, la Dra. María Eugenia Meneses y en especial a la Dra. Aleyda Pérez Herrera, por su comprensión, los buenos consejos, su disponibilidad y ser un excelente ser humano.

A los Integrantes de mi comité tutorial, los doctores Gabino Alberto Gutiérrez Martínez y Cirenio Escamirosa Tinoco por su comprensión e incentivar me en la continuación de la tesis, los buenos consejos y las buenas charlas en los exámenes tutorales.

Al Colegio de Postgraduados, Campus Puebla, en especial al Dr. Claudio Daniel Martínez Carrera por su disponibilidad y colaboración para llevar a buen fin la tesis.

Al Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV), en especial al Dr. Juan de Dios Figueroa Cárdenas por su colaboración en la experimentación.

Al Tecnológico Nacional de México, Campus Oaxaca, y al Dr. Marco Antonio Sánchez Médina, por la apertura de laboratorios para la caracterización de tortillas.

ÍNDICE

RESUMEN	10
I. INTRODUCCIÓN	12
II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	16
JUSTIFICACIÓN	17
HIPÓTESIS	18
OBJETIVO GENERAL	18
Objetivos específicos	18
III. ANTECEDENTES Y MARCO TEÓRICO	20
Alimentos funcionales	21
La dieta mexicana, el maíz como base de la alimentación.	21
El maíz, diversidad genética	22
Maíz Azul VC-42.	25
La tortilla como alternativa en la complementación de la dieta mexicana. Los intentos por fortificar la tortilla de maíz	26
La tortilla de maíz como vehículo consumo de <i>Pleurotus agaves</i>	28
Busqueda de alternativas en nixtamalización	29
Nixtamalización ecológica.	31
Harina de maíz nixtamalizado	31
Caracterización de harinas y tortillas de maíz nixtamalizado	32
IV. METODOLOGIA	33
Muestras vegetales y hongos comestibles.	34
Preparación de harina de maíz nixtamalizada	35
Preparación de las masas (formulación)	36
Análisis proximales	36
Análisis de compuestos bioactivos	37
Contenido de compuestos fenólicos libres y ligados.	37
Contenido de flavonoides.	38
Contenido de antocianinas.	39
Capacidad antioxidante.	39
Propiedades físicas de harinas, masas y tortillas	41
Análisis pasting en harinas.	41
Textura de tortilla.	41
Determinación del color en tortillas.	42
Medición de pH.	42

Análisis sensorial y aceptabilidad de tortillas	42
Análisis de resultados	43
V. RESULTADOS	45
Análisis proximales	46
Contenido de compuestos bioactivos	47
Propiedades físicas de la harina y las tortillas	50
Evaluación sensorial y aceptabilidad de tortillas	52
VI. ANÁLISIS DE RESULTADOS	55
Análisis proximales	56
Compuestos bioactivos	58
Propiedades físicas de la harina y las tortillas	66
Evaluación sensorial y aceptabilidad de tortillas	67
Aplicación potencial del nuevo producto	68
VII. CONCLUSIONES	72
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	74
ANEXOS	83
ANEXO I. Artículo publicado en Food and Function	83
ANEXO II. Curva de calibración para FRAP	94
ANEXO III Curva de calibración para DPPH	95

LISTA DE TABLAS

Tabla I Contenido nutrimental en tortillas y chips de maíz fortificados	27
Tabla II Principales tecnologías de nixtamalización	30
Tabla III Análisis proximales de P. agaves, maíz azul VC-42, y tortillas elaboradas con nixtamalización tradicional y ecológica.	47
Tabla IV Concentración de fenoles libres, ligados y totales, flavonoides, antocianinas , □-glucanos y capacidad antioxidante en maíz, hongo, harinas y tortillas.	48
Tabla V Capacidad antioxidante por tres métodos, ORAC, DPPH y FRAP	49

Tabla VII Propiedades físicas y químicas de harinas y tortillas	51
Tabla VIII Matriz de componentes para determinar la relación de las variables más importantes de cada componente	54
Tabla VIII Incremento de las propiedades nutricionales y funcionales de las tortillas de maíz azul al agregar el tradicional hongo maguey (<i>Pleurotus agaves</i>), incluyendo la influencia en el costo de producción.	69
Tabla IX Contribución nutricional de una porción de tortilla equivalente a 44g	70

LISTA DE FIGURAS

Figura I Porcentaje de producción por tipo de maíz en México y en el mundo	23
Figura II Principales entidades productoras de maíz blanco, amarillo y otros colores.	24
Figura III . Superficie sembrada con otros colores de maíz (ha)	25
Figura IV Muestras vegetales, maíz vc-42 y hongo <i>Pleurotus agaves</i>	35
Figura V Tortillas elaboradas con diferentes tratamientos.	46
Figura VI Viscosidad en harinas.	51
Figura VII Propiedades sensoriales evaluadas en tortillas de maíz azul y tortillas de maíz azul enriquecidas con el hongo <i>P. agaves</i> .	53
Figura VIII Análisis de componentes principales en análisis sensorial evaluado en tortillas de maíz azul y tortillas de maíz azul enriquecidas con el hongo <i>P. agaves</i> .	54

RESUMEN

El maíz nixtamalizado, con el cual se elaboran tortillas, son la base de la dieta de los mexicanos. En este estudio se llevaron a cabo dos métodos de nixtamalización, el tradicional (NT) y el ecológico (NE) para la producción de harinas con maíz azul, que posteriormente fueron enriquecido con el hongo *Pleurotus agaves*. Se analizaron las propiedades fisicoquímicas, nutricionales y sensoriales de harinas, masas y tortillas elaboradas con NT y NE, enriquecidas y no enriquecidas con 9% de *P. agaves*. El contenido de humedad de la masa y las tortillas disminuyó significativamente a medida que aumentaba la concentración de *P. agaves*. El contenido de compuestos bioactivos fue mayor en NE. NE enriquecido con 9% de *P. agaves* resultó en un alto contenido de antocianinas y antioxidantes, lo que representa un proceso de producción de tortillas de maíz con alto contenido de antioxidantes. Las tortillas NE con 9% de *P. agaves* tuvieron una mejor evaluación que las NE sin *P. agaves* en cuanto a capacidad de enrollado, grosor, masticabilidad, sabor y apariencia general; Las tortillas NT con 9% de *P. agaves* en comparación con las NT sin hongos, redujeron su aceptabilidad en cuanto a capacidad de enrollado, masticabilidad, sabor y apariencia general, y mejoraron en aroma y color. La cantidad de *P. agaves* añadida es equivalente a enriquecer las harinas en un 3% con β -glucanos. NE produce tortillas con baja aceptabilidad y mejora significativamente cuando se agrega *P. agaves* a la mezcla. Es el primer estudio nutricional es el hongo *P. Agaves* que mejora la calidad nutricional y sensorial cuando se agrega a las harinas con NE para hacer tortillas con maíz azul. Es necesario desarrollar nuevos productos mediante el uso de alimentos locales con alto valor nutricional.

Palabras clave: *Pleurotus agaves*, maíz azul, tortilla, ecológico, sensorial, reológico, nixtamalización de nutrientes.

ABSTRACT

Nixtamalized corn is used to make tortillas, which are the basis of the Mexican's diet. In this study, two methods of nixtamalization were carried out, the traditional (NT) and the ecological (NE) for the production of flours with blue corn, which was subsequently enriched with the *Pleurotus agaves* mushroom. Physicochemical, nutritional and sensory properties of flours, doughs and tortillas made with NT and NE, enriched and not enriched with 9% of *P. agaves* were analyzed. The moisture content of the dough and tortillas decreased significantly as the concentration of *P. agaves* increased. The content of bioactive compounds was higher in NE. NE enriched with 9% *P. agaves* resulted in a high content of anthocyanins and antioxidants, which represents a production process of corn tortillas with high antioxidant content. NE tortillas with 9% *P. agaves* had better evaluation than NE without *P. agaves* in rollability, thickness, chewiness, taste and overall appearance; NT tortillas with 9% *P. agaves* compared to NT without mushrooms, reduced their acceptability in rollability, chewiness, taste and overall appearance, and improved in aroma and color. The amount of *P. agaves* added is equivalent to enrich the flours in 3% with β -glucans. NE produces tortillas with low acceptability, and is significantly improved when *P. agaves* is added to the mix. It is the first nutritional study is the mushroom *P. Agaves* which improves the nutritional and sensory quality when added to flours with NE to make tortillas with blue corn. It is necessary to develop new products through the use of local foods with high nutritional value.

Keywords: *Pleurotus agaves*, blue corn, tortilla, ecological, sensory, rheological, nutrient nixtamalization.

I. INTRODUCCIÓN

Los alimentos son fuentes de vitaminas y minerales que son apoyo para las funciones biológicas y corporales, que mantienen la homeostasis del organismo. Los alimentos funcionan como sustratos celulares para la diferenciación y proliferación celular y energética como base de las barreras químicas contra la oxidación celular. Existen alimentos que tienen fines dietéticos específicos y alimentos funcionales, estos últimos han tenido una gran atención en la investigación en los últimos 20 años, debido a que se han considerado como una alternativa para el mantenimiento de la salud.

Los alimentos funcionales son aquellos que son de origen natural o procesados, que cuando se consumen regularmente en una dieta diversa en porciones eficaces, tienen efectos potencialmente positivos en la salud más allá de la nutrición básica (Granato et al., 2020). Además de su valor nutricional como alimento, los alimentos funcionales promueven las condiciones óptimas de salud, y que su consumo regular pueden reducir los riesgos de una o más enfermedades no transmisibles como dislipidemia, la diabetes melitus tipo 2 (DM2), la enfermedad cardiovascular (ECV), accidente cerebrovascular y cáncer (Brown et al., 2018).

Junto a la definición de alimento funcional se debe mencionar que este tipo de alimentos deben ser de libre acceso sin necesidad de prescripción médica, además de evidencia científica de beneficios a la salud de sus ingredientes o alimento, cuando son consumidos regularmente en una dieta equilibrada (Lenssen et al., 2018).

Al respecto, la investigación de alimentos está enfocada en un nuevo marco para la creación de alimentos de acuerdo a las recomendaciones dietéticas, tratando de abarcar los problemas por desnutrición de los macronutrientes como lo son las proteínas y fibra, e incluir compuestos bioactivos provenientes de alimentos de la dieta tradicional.

La dieta tradicional mexicana se ha visto fuertemente afectada debido a la globalización alimentaria, ello ha permitido la inclusión de alimentos ricos en grasas, azúcares y sal, lo que ha incrementado el problema de salud que padece México

relacionado con enfermedades metabólicas como la DM2 y ECV (Pérez Herrera & Meneses Álvarez, 2019). El maíz (*Zea mays* L.) es el cereal más producido y consumido en México (Vázquez-Carrillo et al., 2015). Para consumir maíz, generalmente primero se nixtamaliza. En la nixtamalización tradicional (NT), los granos de maíz se hierven en una solución de hidróxido de calcio y, después de un remojo de 16 horas, el maíz cocido, llamado nixtamal, se muele, formando así una masa. El maíz nixtamalizado se destina principalmente a la producción de tortillas, consideradas la base de la dieta de los mexicanos (Valderrama-Bravo et al., 2015), con un consumo diario de 1200 millones de kilogramos. El cuarenta por ciento del consumo de maíz nixtamalizado se produce a través de las harinas (Reyes-Moreno et al., 2013).

En los últimos años, el interés por las variedades de maíz pigmentado ha aumentado debido a su contenido de antocianinas y otros flavonoides, así como a su contenido de capacidad antioxidante que tiene efectos beneficiosos sobre la salud del consumidor (Reynoso-Camacho et al., 2015). Entre las variedades de maíces pigmentados, el maíz azul se destaca por la ubicación de antocianinas en el endospermo, lo que permite la retención de compuestos bioactivos durante la nixtamalización (Betrán et al., 2001). Sin embargo, la nixtamalización tradicional no es eficiente porque implica alto consumo de agua, producción de residuos sólidos y contaminación de efluentes. La pérdida de nutrientes como grasas, proteínas, fibra dietética y varios compuestos bioactivos, principalmente antocianinas (Maya-Cortés et al., 2010). Por tanto, se han buscado nuevas alternativas, como la nixtamalización ecológica (NE). NE utiliza sales de calcio como sustituto de la cal en el proceso de nixtamalización, evitando así la pérdida del pericarpio, rico en fibra, proteínas y lípidos, en el licor de cocción. Las tortillas elaboradas con este proceso tienen una masa y color más limpios que las elaboradas con el proceso de nixtamalización tradicional, además de buenas características sensoriales (Figueroa et al., 2011).

Los hongos comestibles son funcionales y medicinales porque contienen nutrientes y compuestos bioactivos; sobre todo, son ricos en β -glucanos que, junto con los glucanos, aportan hasta el 40% de su peso total. Se ha demostrado el efecto beneficioso de los hongos sobre los biomarcadores de riesgo cardiovascular (Meneses

et al., 2016). Además, el consumo de β -glucanos reduce el riesgo de diabetes y cáncer de colon (Kurek et al., 2015). β -Glucanos (mixtos (1–3) - y (1–4) - β -D-glucanos) juegan un papel tecnológico importante en los alimentos procesados (Foschia et al., 2013; Limberger-Bayer et al., 2014).

Los grupos hidroxilo de las fibras que incluyen β -glucanos interactúan con el agua a través de enlaces de hidrógeno, favoreciendo su capacidad para absorber o retener agua (Chaplin, 2003; Foschia et al., 2013) y compitiendo con el almidón por el agua, provocando cambios en la gelatinización y propiedades reológicas de la masa y por tanto afectando la maquinabilidad de la masa y de la tortilla (Foschia et al., 2013). Por esta razón, es importante determinar la concentración adecuada de β -glucanos en la harina de maíz nixtamalizada, lo que da como resultado masas y tortillas de buena calidad y propiedades reológicas. Siguiendo las tendencias actuales de los consumidores hacia dietas más saludables, muchos estudios han investigado la adición de diferentes componentes para fortificar la harina de maíz nixtamalizada y las tortillas de maíz: harina de garbanzo, harina de caupí, harina de linaza, harina de triticale y otros (Flores Sotelo, 2007; Sánchez-Madrigal et al., 2017). El objetivo de este capítulo de la tesis fue evaluar el efecto de la adición de hongos *Pleurotus agaves* Denis a tortillas de maíz azul después de dos procesos de nixtamalización (NT y NE) sobre sus propiedades fisicoquímicas y sensoriales

II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

JUSTIFICACIÓN

Según la encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2016 (ENSANUT 2016) cuatro de cada 10 mexicanos padecen SMet, esto conlleva grandes gastos en salud pública, tan solo en 2008 las enfermedades relacionadas con la obesidad absorbieron el 13% de los gastos en salud (López-Espinoza et al., 2014), y para 2017 los gastos se duplicaron.

La ingesta de alimentos con alta densidad energética y grandes apósitos grasos está relacionada con el desarrollo de la obesidad, y esto es debido a la sobre oferta de alimentos procesados, además de alimentos en un mundo globalizado, que son ajenos a nuestra cultura (Suárez Fernández et al., 2013), en este sentido, los estándares de alimentación que se han mantenido durante siglos cambia rápidamente. Sin embargo existen ingredientes nativos mexicanos con altos valores nutricionales y funcionales.

El maíz es la base de la alimentación en México, y recientemente los granos pigmentados adquieren especial importancia por su contenido en compuestos bioactivos y funcionales, estos se encuentran con mayor concentración en aleuronas y pericarpio, el cuál se ve afectado por el proceso de la nixtamalización tradicional, por ello se han buscado alternativas que retengan y potencialicen dichos compuestos para el consumo humano, como lo es la Nixtamalización ecológica(Figueroa et al., 2011), un proceso muy parecido a la nixtamalización tradicional, que solo varía por la sustitución del hidróxido de calcio por otras sales de calcio, haciéndolo de fácil reproducción para la mayoría de la población . Y dado que la tortilla es un alimento base en la población mexicana, podrían ser un vehículo para el consumo de otros alimentos nativos, como los hongos que han demostrado efectos positivos en varios biomarcadores de inflamación y oxidación. La creciente evidencia ha demostrado que la inflamación es un proceso implicado en el desarrollo de la obesidad, y a través de vías inflamatorias un mayor riesgo a padecer DM2 y ECV. También se ha demostrado que los hongos tienen efectos hipocolesterolémicos, involucrando mecanismos de antiinflamación e inhibición del daño oxidativo, así como aglutinación de plaquetas(Meneses et al., 2016).

El mezclar el maíz con el hongos nativos mexicanos, como el *Pleurotus agaves*, diversifica las opciones de alimentos saludables, sin embargo estas mezclas deben ser monitoreadas, debido a que los β -glucanos, uno de los compuestos presentes en las setas y que tiene efectos potenciales benéficos para la salud, presenta gran cantidad de grupos hidroxilo, que tienen gran afinidad con el agua, y con esto aumenta la capacidad de retención de las mezclas, teniendo probablemente aumentos en los requerimientos de agua, cambiando con ello la adhesividad y cohesión en masas y textura en tortillas.

HIPÓTESIS

Es posible la adición de ingredientes nativos mexicanos con propiedades funcionales, a tortillas de maíz nixtamalizado. Con ello se potenciará la actividad antioxidante propia de los maíces y un aumento significativo en los niveles de compuestos bioactivos.

Los maíces pigmentados tienen cantidades significativas de compuestos bioactivos, por ello existen alternativas que reducen pérdidas durante el procesamiento, como la nixtamalización ecológica, pero que para el consumidor son perceptibles sensorialmente.

La adición de *Pleurotus agaves* a tortillas de maíz azul, permite la obtención de tortillas ricas en β -glucanos, y en combinación con nixtamalización ecológica, una matriz alimentaria más similar a la nixtamalización tradicional, con aceptación sensorial.

OBJETIVO GENERAL

Formular tortillas de maíz azul enriquecidas con el hongo comestible *Pleurotus agaves*, que permitan mantener las características sensoriales idóneas de consumo y un aumento en compuestos bioactivos.

Objetivos específicos

- Evaluar los métodos de nixtamalización tradicional y ecológica sobre la retención de antocianinas totales, β -glucanos, fenoles libres, ligados y totales, flavonoides y capacidad antioxidante cuando *P. agaves* es agregado.

- Evaluar el efecto de la adición del hongo *P. agaves* sobre la reología de la tortilla.
- Valorar el efecto de la mezcla del hongo *P. agaves* sobre la adhesividad de masas.
- Examinar sus características sensoriales y nutrimentales.

III. ANTECEDENTES Y MARCO TEÓRICO

Alimentos funcionales

La concepción de alimentos funcionales es realizada en japon en la década de los 80 del siglo pasado como una política gubernamental de dicho país para mejorar la salud (Granato et al., 2020), y estos incluyen productos, ingredientes o alimentos que al ser consumidos favorecen efectos benéficos sobre la salud humana, y además reducen el riesgo de padecer enfermedades metabólicas, esto más allá de las funciones básicas de todo alimento. Los alimentos funcionales son:

- De origen natural o enriquecidos, fortificados o mejorados
- Funcionales a nivel fisiológico
- Deben ser consumidos en conjunto con una dieta variada en cantidades suficientes y con regularidad para poder obtener sus beneficios.

Dicho de otra forma, los alimentos funcionales son aquellos que han sido fortificados o enriquecidos de tal forma que sus ingredientes actúan de forma sinérgica sobre la salud humana, obteniendo beneficios en conjunto con las propiedades nutricionales de cada uno de los ingredientes (Brown et al., 2015). En este concepto también se incluyen dos efectos primarios, el primero es un aumento significativo en la función fisiológica y el segundo es reducir potencialmente el riesgo de padecer enfermedades de origen metabólico o no transmisibles. En este sentido, la tortilla de maíz podría ser una excelente alternativa para la elaboración de alimentos funcionales.

La dieta mexicana, el maíz como base de la alimentación.

Las regiones geográficas en el mundo tienen dietas particulares, y estas forman parte de una memoria colectiva, que va más allá de la simple ingesta de alimentos, sino también de relaciones socioeconómicas y actos que lo cargan de simbolismo cultural (Suárez Fernández et al., 2013). En México, el maíz es la máxima expresión de la dieta que refleja la historia y la actualidad.

La base alimentaria del maíz usada por los indígenas se vió enriquecida por la combinación de ingredientes de los conquistadores, y pese a ello, el maíz siguió predominando en este mestizaje alimentario. Un mexicano consume del maíz 1022 Kcal y 26.3 g de proteína diariamente, lo que se podría considerar que es hasta el 50% de la ingesta diaria, tomando en cuenta una dieta base de 2000 kcal y 56 g de proteína (Serna-Saldívar et al., 2013). Del cultivo del maíz surgieron nuevos usos e “inventos mexicanos” como el huitlacoche, cuyo uso no se ubica más allá de 100 años, aunque en muchas comunidades su consumo se encuentra muy arraigado. El Huitlacoche *Ustilago maydis* es un hongo con gran potencial nutraceutico (Juárez-Montiel et al., 2011)

La población mexicana ha obtenido por herencia una de las tradiciones más variadas y saludables que existen en el mundo actual. Como anteriormente se ha mencionado, la base es el grano de maíz, y es considerada Patrimonio Cultural Inmaterial de la Humanidad por Organización de Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura (UNESCO, 2010). No obstante la globalización junto a los intereses políticos y económicos de la industria alimentaría ha adoptado y cambiado la dieta incorporando grasas saturadas, grandes cantidades de azúcares y sal, paralelo a ello ha disminuido el consumo de platillos y alimentos tradicionales basados en el maíz y otros productos vegetales procedentes del sistema milpa, como lo es la calabaza y un sinfín de quelites, dichos productos tienen un gran potencial en cuanto a compuestos bioactivos. Esta transición alimentaría, ha permitido la reducción de siembra y uso de los maíces nativos, además de grandes problemas en la salud de la población, entre ellos el SMet, ECV y DM2.

El maíz, diversidad genética

El maíz (*Zea mays* L.) junto con el trigo (*Triticum aestivum* L.) y arroz (*Oryza sativa* L.), son los cereales más importantes y cultivados en todo el mundo. El maíz es la base de alimentación de los países en desarrollo. El grano es de la especie *Zea* de la familia de las gramíneas, es una planta anual (FAO, 2002). La producción anual mundial es de

800 millones de ton, resaltando Estados Unidos y China como principales productores, mientras que México ocupa el quinto lugar.

En 2012 la producción de maíz en México fue de 22 069 254 t, y para 2017 de 27 762 481 t, estos valores muestran un aumento del 25.8% en la producción (SIAP, 2018). De esta producción el 85% es maíz blanco, el 7% maíz amarillo y 7% para maíces pigmentados. Mientras que alrededor del mundo se prefiere sembrar el 90% de maíz amarillo y el 10% de maíz blanco. La tortilla de maíz tiene un consumo anual per cápita de 336.6 Kg. En la **Figura I** observamos el porcentaje de producción de los tipos de maíz en México y el mundo.

Porcentaje de producción por tipo de maíz en México y en el mundo

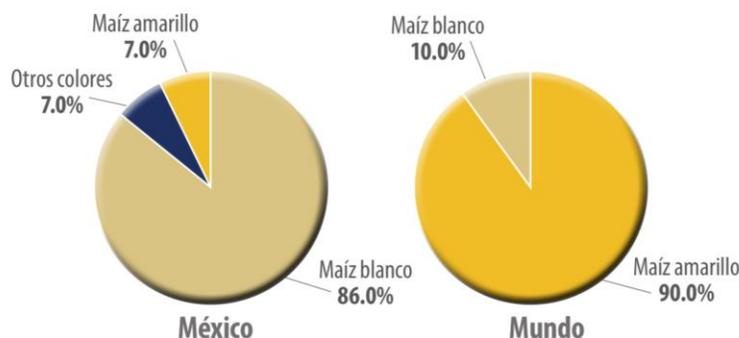


Figura I Porcentaje de producción por tipo de maíz en México y en el mundo

(Tomado del Atlas agroalimentario 2018 del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera)

El maíz tiene una gran diversidad genética, y en los maíces cultivados en México pueden apreciarse diferentes formas y tamaños de la mazorca, además de diferentes colores debido a los pigmentos encontrados en las aleuronas. Se han contabilizado 64 razas de maíz en México, entre estas se incluyen tonalidades negras, azules y rojas, sin embargo se prefiere la producción de maíces blancos y amarillos.

Los pigmentos observados en los granos de maíz se deben a la presencia de antocianinas en el pericarpio, la aleurona e incluso en ambos. Los maíces pigmentados normalmente se cultivan para autoconsumo, principalmente la elaboradas con maíz azul, que trascienden en las comunidades y pueblos de la región central de México (Salinas

Moreno et al., 2017). En la **Figura II** observamos las principales entidades productoras de maíz blanco, amarillo y de otros colores.



Figura II Principales entidades productoras de maíz blanco, amarillo y otros colores.

(Tomado del Atlas agroalimentario 2018 del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera)

En teoría, según lo publicado en el Atlas agroalimentario 2018, el maíz blanco producido en México satisface en su totalidad la demanda nacional, priorizando el uso humano, sin embargo, el maíz amarillo solo satisface el 24% de los necesarios para cubrir la demanda nacional, este tipo de maíz se usa principalmente para piensos y productos industriales.

En la **Figura III** se muestra la superficie sembrada con otros colores de maíz distintos al blanco y amarillo, que tienen importancia económica, cultural, alimenticia y turística. En este sentido el estado de México y Chiapas destacan en la producción de estos maíces.

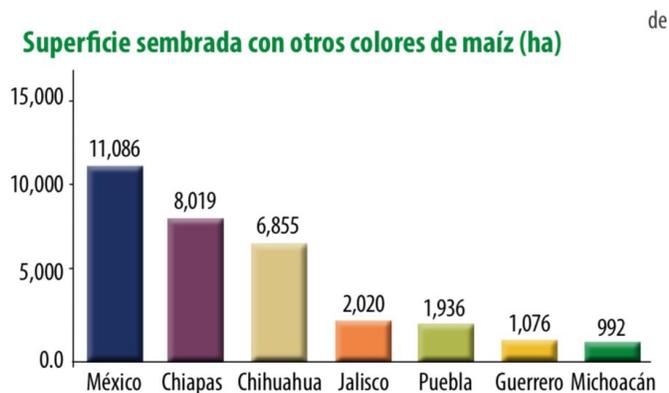


Figura III . Superficie sembrada con otros colores de maíz (ha)

Tomado del Atlas agroalimentario 2018 del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera.

Maíz Azul VC-42.

Como anteriormente se había mencionado, los maíces pigmentados destacan por su contenido de compuestos bioactivos, en este sentido se han realizado mejoras a las razas de maíz, los granos mejorados son el resultado de cruzamiento y selección de razas con lo que se busca mejores rendimientos en cosecha. Instituto Nacional de Investigación Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Valles Centrales, seleccionó la variedad de maíz vc-42, que fue colectada en la comunidad de Santa Ana Zegache, Oaxaca en el año de 1997. Es de la raza bolita y después de varios años de selección se generó la variedad que lleva el mismo nombre.

De acuerdo al INIFAP el maíz vc-42 se adapta a climas semicálidos y semisecos en altitudes entre 1200 y 1800 metros sobre nivel del mar. El tiempo de floración es entre 60 y 72 días, con una altura entre 220 y 280 cm, el tiempo de cosecha aproximado es entre 110 y 135 días.

Desde el inicio de las investigaciones a cerca del maíz, se centró en la capacidad nixtamalera y en la tortillera, sin embargo hoy en día se centra el uso de la tortilla como una fuente de antioxidantes y compuestos funcionales, por ello se ha sugerido usarlo como vehículo para el consumo de otros productos vegetales.

La tortilla como alternativa en la complementación de la dieta mexicana. Los intentos por fortificar la tortilla de maíz

El enriquecimiento o fortificación de productos alimentarios es la mejora nutricional mediante la adición de nutrientes que originalmente no contaba el alimento, o que los perdió durante su procesamiento tales como vitaminas, minerales, aminoácidos, suplementos proteicos e incluso fibra dietética (Figuroa-Cárdenas et al., 2001). La fortificación es una estrategia que se basa en potenciar los beneficios nutricionales, en el menor tiempo a la población en desnutrición mediante la mejora de alimentos que forman parte de la dieta diaria.

Las tortillas de maíz son la base de la alimentación mexicana, y constituyen del 60 al 90% de la ingesta de cereales en gran parte de la población, en promedio representan casi el 50% de la ingesta energética individual en México (Burton et al., 2008), es por ello que la fortificación de tortillas es una excelente alternativa para reducir las deficiencias de micro y macronutrientes.

Para la elaboración de tortillas el maíz debe pasar por un proceso llamado nixtamalización, que consiste en llevar a ebullición los granos en una disolución con hidróxido de calcio, durante este proceso el almidón se pregelatiniza, la proteína es desnaturizada y el pericarpio es hidrolizado parcialmente, después de esta transformación el maíz nixtamalizado contiene mayores niveles de calcio biodisponible niacina en mayor biodisponibilidad (Serna-Saldívar et al., 2013).. Posterior a la nixtamalización los granos de maíz son llevados a una reducción de tamaño, normalmente realizada en molino de piedra, y de forma tradicional la masa obtenida es utilizada para la elaboración de tortillas y de muchos productos derivados, sin embargo, a esta masa se reduce la humedad, y se lleva a una segunda molienda para la obtención de harina de maíz nixtamalizado.

La transformación del maíz durante la nixtamalización y el refinamiento, modifica la composición química, pero también existen pérdidas de componentes en el licor de cocción llamado nejayote, se pierde fibra dietética, compuestos bioactivos y pequeñas

cantidades de macronutrientes como proteínas. Desde el año 1976 se han hecho intentos por enriquecer la tortilla (Del Valle, 1976), y actualmente se sigue investigando alternativas de fortificar tortillas implementando flores, frutos, semillas, insectos, hongos y tubérculos.

En la **Tabla I** se encuentran concentradas las investigaciones halladas sobre el enriquecimiento y/o fortificación de la tortilla desde 1976 hasta la actualidad. Los primeros intentos se centraron en aumentar las cantidades de proteína y fibra, sin embargo, las investigaciones recientes se interesan en el aumento de compuestos bioactivos y funcionales.

Tabla I Contenido nutrimental en tortillas y chips de maíz fortificados

Autor	Tratamiento	Proteína (%)	Grasa (%)	Fibra total (%)	Ceniza (%)	ELN (%)	Cal Kcal/100g
(Soriano et al., 2016)	20% Avena obsidiana	8.70	0.00	1.70	1.90	--	--
(Del Valle, 1976)	10% Soja	12.90	2.64	--	1.30	--	--
(Páramo-Calderón et al., 2019)	5% Moringa	24.00	4.61	--	4.80	--	--
(Vázquez Rodríguez & Amaya Guerra, 2010)	3% frijol-7% amaranto	9.60	--	--	--	--	--
(Amador-Rodríguez et al., 2015)	9% Huitlacoche	10.23	2.54	14.88	--	--	--
(Amador-Rodríguez et al., 2015)	9% Huitlacoche	6.93	3.01	12.02	--	--	--
(Amador-Rodríguez et al., 2015)	9% Huitlacoche	9.02	1.74	9.48	--	--	--
(Hernández-Reyes et al., 2019)	10% bagazo soja	9.68	2.28	18.66	2.36	67.03	327.31
(Mayo-Mayo et al., 2020)	10% Roselle	7.00	10.84	29.30	2.05	50.81	328.80
(Aparicio-Saguilan et al., 2013)	50% Yuca	5.20	1.50	5.20	1.50	75.70	337.10
(R. Rendón-Villalobos et al., 2012)	20% chía	12.48	10.95	25.71	1.76	49.10	344.87
(Cornejo-Villegas et al., 2010)	2% Polvo de nopal	8.67	3.03	4.37	1.45	71.77	349.03
(Mayo-Mayo et al., 2020)	5% Mango	7.34	10.78	23.79	1.55	56.54	352.54
(Santana-Gálvez et al., 2016)	10% Zanahoria	7.47	1.12	10.89	1.91	78.60	354.36
(J. R. Rendón-Villalobos et al., 2009)	20% linaza	12.93	12.00	23.50	1.64	49.93	359.44
(Aparicio-Saguilan et al., 2013)	40% Plátano inmaduro	5.80	2.50	4.90	1.40	78.60	360.10
(Mora-Avilés et al., 2007)	22% Fríjol	11.00	2.00	3.40	5.00	78.60	376.40
(Islas-Hernández et al., 2007)	MASECA	7.50	1.97	--	1.40	83.40	381.33
	2.5% aguacate-2.5%						
(Rodiles-López et al., 2019)	pal	5.59	9.79	12.77	2.62	69.23	387.39
(Chel-Guerrero et al., 2014)	20% Malanga	9.25	1.85	9.39	2.88	83.45	387.45
(Chel-Guerrero et al., 2014)	40% Yuca	6.81	1.64	7.61	1.86	86.85	389.40

(de Dios Figueroa Cárdenas et al., 2003)	4% soja desgrasada	10.92	4.13	2.40	2.21	77.95	392.62
(Mora-Avilés et al., 2007)	22% Fríjol	13.10	2.40	2.10	2.10	80.30	395.20
(Islas-Hernández et al., 2007)	20% Amaranto	10.60	4.81	--	1.52	77.61	396.13
(Sánchez-Marroquín et al., 1987)	20% amaranto	9.10	4.20	2.40	1.55	82.75	405.20
(Argüello-García et al., 2017)	20% <i>Jatropha curcas</i>	20.80	7.57	3.80	3.99	63.85	406.73
(Amaya-Guerra et al., 2004)	3% Soja	11.26	4.18	1.32	1.85	81.39	408.26
(Hernandez-Chavez et al., 2019)	5% de <i>Lupinus</i>	16.74	6.38	2.63	2.55	71.69	411.21
(Treviño-Mejía et al., 2016)	20% frijol	10.89	4.14	12.76	1.81	85.25	421.82
(Vázquez-Durán et al., 2014)	4% brócoli	8.50	10.20	2.60	2.10	76.60	432.20

La tortilla de maíz como vehículo consumo de *Pleurotus agaves*

Con el maíz se elabora gran cantidad de alimentos, tan bastos que cada una de las regiones tiene alimentos característicos de sus etnias, estos productos son tan básicos en la alimentación, que se consideran excelentes vehículos para incrementar la calidad nutricional de la población.

Dentro de la investigación actual destacan aquellos que relacionan la ingesta de alimentos sobre la salud del consumidor, uno de esos alimentos son los hongos nativos de México. Nuestro país es uno de los que cuenta con mayor especies silvestres y con propiedades funcionales y medicinales (Pérez Herrera & Meneses Álvarez, 2019). De los hongos, los más comercializados son los champiñones (*Aguaricus*) y las setas (*Pleurotus*), y la alza en su consumo es derivado de los estudios que demuestran su alto contenido de proteína y compuestos bioactivos, además del gran contenido de beta-glucanos que se han asociado con efecto prebiótico (Meneses et al., 2016). A continuación se presentan algunos de los estudios que demuestran el efecto de los hongos en parámetros del SMet.

En un estudio con ratas obesas, en el cual se estudió la administración de polisacáridos extraídos de hongos *Pleurotus*, a una concentración de 20 mg por kilogramo, durante un periodo de ocho semanas, se observó la reducción de peso de forma significativa (Huang et al., 2014). En ratones C57BL6 con obesidad, se estudió el efecto de extracto de β -glucanos de la especie *Pleurotus sajor-caju*, de los cuales se

sumistraron 10,129 y 240 mg por kilogramo de peso, se observó reducción de forma significativa de la expresión de genes lipogénicos en tejido adiposo (PPAR- γ , SREBP-1c y LPL) en contraposición con lo observado en la expresión de genes asociados a la lipólisis (HSL y ATGL) de los cuales aumentó. También se midieron disminuciones en lípidos en suero, además de aumentar la actividad de enzimas antioxidantes en hígado (SOD, CAT, y GPx) (Kanagasabapathy et al., 2012).

En un modelo de ratas con diabetes y obesidad, la administración de extracto de polisacáridos de la especie *Pleurotus* disminuyó de forma significativa la hiperglucemia y reestablecer los niveles de insulina sérica (Huang et al., 2014).

En otro estudio realizado con *Pleurotus ostreatus* y *Pleurotus cystidiosus* se midió el efecto hipoglucemiante, con lo cual se demostraron sus efectos benéficos, resultado de un posible mecanismo de acción en la producción de insulina y aumento en la actividad de la enzima glucoquinasa. Dicha enzima cataliza la fosforilación de la glucosa a glucosa 6-fosfato, con un importante papel en la regulación del metabolismo de carbohidratos, actuando en la sensibilidad de la glucosa, provocando cambios en el metabolismo y/o funcionamiento celular, en respuesta a la disminución de los niveles de glucosa en sangre, de la misma forma como ocurre después de una comida o en ayuno (Banukie N Jayasuriya et al., 2015).

Busqueda de alternativas en nixtamalización

El maíz aporta importantes cantidades de calorías, proteínas y micronutrientes que benefician a las industrias alimentarias para consumo humano. En países en desarrollo adquiere especial importancia, debido a que los alimentos elaborados con maíz se considera la base de la alimentación. Entre ellos destaca la tortilla, que como ya hemos mencionado se han hecho muchos estudios para el enriquecimiento. Sin embargo el proceso llamado nixtamalización tiene efectos sobre las propiedades físicas, químicas y nutricionales de la tortilla. Hoy en día existen tendencias en la investigación para la

elaboración de procesos alternativos en la nixtamalización para ahorro de tiempo, conservación de propiedades nutricionales y propiedades nutraceuticas mejoradas. En la **Tabla II** se enlistan las principales tecnologías de nixtamalización.

Tabla II Principales tecnologías de nixtamalización

Tipo de nixtamalización	Aditivos	Especificaciones de procesamiento	Autor.
Tradicional	Ca(OH) ₂ 1-5%	Los granos de maíz se llevan a ebullición en una disolución con hidróxido de calcio, después se deja en un tiempo de remojo entre 12 y 16 horas, el nixtamal se lava y se muele en un molino de piedra para producir masa, tortillas y otros productos.	(Serna-Saldivar et al., 2004)
Clasica	Cenizas volcánicas	Se realiza igual que la tradicional	(Mariscal Moreno et al., 2015)
Ecológica	Sales de calcio	Se realiza igual que la tradicional	(Figuerola et al., 2011)
Extrucción	Ca(OH) ₂ , 0.3-1.5%	El maíz es triturado para obtener una sémola, se añade agua con hidróxido de calcio, se hace pasar por varias zonas de calentamiento en un dispositivo. Con esto se obtiene masa y harinas.	(Platt-Lucero et al., 2011)
Calentamiento óhmico	Ca(OH) ₂ 0.3%	El maíz molido (1 kg) se mezcla con aditivo y diferentes cantidades de agua (50–60%), velocidad del tornillo (10–20 rpm) y temperatura de 75–85 ° C. La potencia aplicada es de 1 W / go de 7,37 a 11,66 W/h.	(Ménera-López et al., 2013)
Por fraccionamiento	Ca(OH) ₂ , 0.29–1.71%	Los granos de maíz se separan en dos fracciones y se nixtamalizan dentro de una licuadora intermitente con inyección de vapor. Antes de la separación de las fracciones, los granos de maíz se maceran en diferentes condiciones de tiempo (5, 10, 20, 30 y 40 min) y temperatura (20, 30 y 40 ° C).	(Cortés-Gómez et al., 2005)
Calefacción por infrarrojo	Ca(OH) ₂	La etapa de cocción se realiza en un horno infrarrojo de convección doméstico comercial de 12 L de capacidad con una temperatura de cocción promedio fijada en 260 ° C. Usando esta condición de temperatura, el nixtamal se cocinó a aproximadamente 80 ° C	(Consuelo Morales & García Zepeda, 2017)
Asistida por ultrasonido	Ca(OH) ₂ 1.2%	Un tanque transductor de acero inoxidable se ajusta a una temperatura de 80 ° C y el nixtamal se cuece con una frecuencia de ultrasonido de 25 a 42 kHz con una potencia promedio del 100%. La intensidad del ultrasonido también varía de 0 a 843 W·m ⁻²	(Consuelo Morales & García Zepeda, 2017)
Nixtamalización enzimática	0,1% de proteasa alcalina. Rangos de números de EC 3.4.24. y EC 3.4.21. La enzima	Los cereales integrales se cuecen en agua a una temperatura y un tiempo ajustados dependiendo de la dureza del grano. El maíz se remoja en una solución al 0.1% de proteasa alcalina (50-60oC), luego se logró un	(Jackson, 2002)

	más preferida es EC 3.4.21.62. Combinación de hidróxido de calcio, hidróxido de sodio o hidróxido de potasio	ajuste de pH mediante la adición de Ca (OH) 2. Después de 4 h, los granos de maíz se lavan y se muelen en un molinillo de piedra en partículas gruesas. El material se deshidrata (80-150°C) y se vuelve a moler en un molino de martillos para obtener un material más fino (harina). La harina se rehidrata en masa y se amasa para preparar tortillas, totopos y tacos.	
Microondas	Ca(OH) ₂ , 0, 0.3, 0.5 y 2%	Se mezcla maíz entero, molido y descascarado con diferentes contenidos de agua (100, 70, 95%) y tiempos de cocción (10, 15, 20 min). La potencia de 800 W y la frecuencia de funcionamiento era de 2.450 MHz. Las harinas obtenidas luego se rehidratan para producir masa y tortillas.	(Santos-Buelga & Scalbert, 2017)

Nixtamalización ecológica.

La nixtamalización ecológica fue echa con el fin de reducir la contaminación provocada por el nejayote (licor de cocción del nixtamal) Figueroa propuso y patentó la nixtamalización ecológica (Figueroa et al., 2011). En esta nixtamalización se reduce el pH de los residuos que varían entre 4.19 y 7.38, que es significativamente más baja que en la nixtamalización tradicional (pH 12-14), esto se logra gracias al cambio del hidróxido de calcio por sales de calcio. Como resultado de esta disminución, se obtienen productos con mayor contenido de fibra dietética y menor producción de efluentes contaminantes. También se ha reportado una mayor retención de compuestos bioactivos cuando es usada en variedades de maíz pigmentada (Rodríguez Méndez et al., 2013). Las masas y tortillas muestran mejores aspectos y excelentes características sensoriales en comparación con la nixtamalización tradicional. La nixtamalización ecológica logra un mejor perfil nutricional en los productos, lo que podría tener un impacto positivo notable en la salud pública.

Harina de maíz nixtamalizado

Fue en 1949 que comenzó la industria de la harina de maíz nixtamalizado con el inicio de operaciones del grupo Industrial Molinos Azteca, S.A. Y en 1980 se realizó la Norma Oficial Mexicana NMX-F-046-S-1980, la harina de maíz nixtamalizado se obtiene de la molienda de estos granos previamente nixtamalizados y deshidratados. De acuerdo a dicha norma, el color de las harinas debe ser característico a la variedad del grano, olor propio y que no presente rancidez, cómo mínimo debe pasar por un tamiz de 0.250 mm de abertura.

Caracterización de harinas y tortillas de maíz nixtamalizado

La presencia de biopolímeros, almidones, B-glucanos, la relación de amilosa y el calor de procesamiento a la harina de maíz, modifica el comportamiento de los almidones del maíz, con ello la viscosidad y temperatura de gelatinización presentará variaciones, por ello es necesario medir propiedades fisicoquímicas de harinas y tortillas.

Con las propiedades físicas se permite determinar si las harinas son funcionales para la elaboración de productos alimentarios, el pH y color se pueden relacionar con los efectos del hidróxido de calcio utilizado durante la nixtamalización (Santiago-Ramos et al., 2018). El comportamiento reológico a través del RVA permite conocer si la masa es moldeable, esto a través de la medición de la gelatinización.

IV. METODOLOGIA

Muestras vegetales y hongos comestibles.

El maíz azul VC-42 fue cultivado, cosechado y secado en el Instituto Nacional de Investigación Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Valles Centrales, Campus, Oaxaca, México. El hongo *P. agaves* se cultivó en paja de trigo, cosechado y secado en el Colegio de Posgraduados, campus Puebla. La cepa provino del Centro de Recursos Genéticos de Hongos Comestibles, Funcionales y Medicinales (CREGEN-HCFM), Colegio de Posgraduados Campus Puebla, México. La cepa está depositada en GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) con el siguiente número de acceso GU722263. Ambos materiales vegetales se muestran en la **Fig. VI**. Los hongos se deshidrataron hasta un contenido de humedad del 10% y se trituraron y tamizaron utilizando una malla de 0,5 mm.

Para el cultivo de *P. agaves*, previamente se humedeció la paja de trigo como sustrato y se colocó en bolsas de polipropileno con un microfiltro de 0.5 μm ; el sustrato se esterilizó en autoclave (All American, EE. UU.) a 121 ° C durante 1,5 h. Las bolsas se inocularon individualmente con semillas de *P. agaves*, y luego de la inoculación, se incubaron a 26.5 ± 1.5 ° C; Una vez colonizados los sustratos, las unidades se incubaron en condiciones constantes de luz natural indirecta (10-12 h), temperatura de 21 ± 4 ° C, humedad relativa entre 70 y 80% y ventilación natural para promover la fructificación de *P. agaves*. Se hicieron de diez a quince réplicas por lote. Después de cosechar los basidiocarpos, se cortaron en rodajas de 3 mm de ancho y se deshidrataron hasta un contenido de humedad del 10% a 40 ° C durante cinco días en un horno de secado de

aire forzado (SMO28-2, Shel Lab, EE. UU.). Después de secar, los hongos se trituraron y se tamizaron con una malla de 0,5 mm.



Figura IV Muestras vegetales, maíz vc-42 y hongo *Pleurotus agaves*

Preparación de harina de maíz nixtamalizada

Para la preparación de las harinas se utilizaron dos procesos de nixtamalización: tradicional y ecológico. La nixtamalización tradicional se realizó según Campechano Carrera (Campechano Carrera et al., 2012). Brevemente, el maíz se hirvió en una solución de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ al 1% (p / v) en una proporción 2: 1 (p / v) durante 30 minutos, según los resultados del índice de flotación, el cual fue calculado de acuerdo a la norma oficial mexicana NMX-FF-034/1-SCFI (alimentos no industrializados productos para consumo humano. Cereales. Parte I: maíz blanco para procesamiento alcalino para tortillas de maíz y productos de maíz nixtamalizados. Prueba de especificaciones y métodos., 2002). Después de 16 horas, se retiró el licor de cocción y el maíz cocido se lavó con agua purificada en una proporción de 1:1. Para la obtención de la masa se utilizó un molino de piedra (Modelo M100, FUMASA, CINVESTAV Querétaro, México). Posteriormente, la

masa se secó a 260°C durante 4 segundos en un secador instantáneo. Posteriormente, la masa seca se trituró en un molino (Pulvex-200, México) con un martillo y se tamizó con una malla de 0,5 mm. La harina resultante se almacenó a 4 ° C hasta su uso. Para obtener harina mediante nixtamalización ecológica, se repitió el procedimiento según Figueroa et al., (2011), reemplazando Ca(OH)₂ con CaCl₂.

Preparación de las masas (formulación)

Las harinas de maíz preparadas mediante nixtamalización tradicional y nixtamalización ecológica se enriquecieron con un 9% de hongo *P. agaves*. Las masas se prepararon mezclando agua y harina (enriquecida y no enriquecida) en una proporción de 1:2. Las tortillas se utilizaron inmediatamente después del procesamiento.

Análisis proximales

Se realizaron análisis proximales por triplicado para el hongo *P. agaves*, el maíz azul y las tortillas. Para determinar el contenido de humedad, cenizas, grasas, proteínas y fibras, se utilizaron los métodos de la AOAC 2000 (AOAC, 2000). La determinación de la humedad se llevó a cabo mediante secado a 105 ° C hasta alcanzar un peso constante, mientras que el contenido de cenizas se determinó mediante calcinación del residuo a 550 ° C durante 8 h. El contenido de nitrógeno se calculó mediante la técnica de Kjeldahl y las concentraciones de proteínas se determinaron mediante el factor de nitrógeno de 6,25. El contenido de grasa se obtuvo por extracción con éter de petróleo, y la fibra dietética total se determinó incinerando los residuos orgánicos después de la digestión

con ácido sulfúrico e hidróxido de sodio. El extracto libre de nitrógeno (ELN) se obtuvo por diferencia entre la suma de cenizas, grasas, proteínas y fibra dietética, y sus valores se restaron de 100 en base seca. La energía total se obtuvo en base a los resultados de carbohidratos, proteínas y grasas. Los factores de conversión utilizados se basaron en energía metabolizable y métodos analíticos: 4 kcal/g para carbohidratos, 4 kcal/g para proteínas y 9 kcal/g para grasas (FAO, 2002).

Análisis de compuestos bioactivos

Los contenidos de compuestos bioactivos se determinaron en la materia prima (hongos y maíz azul), así como en las harinas nixtamalizadas y tortillas enriquecidas y no enriquecidas. Después de procesar, las tortillas se enfriaron a temperatura ambiente dentro de un paño de algodón. Las tortillas se molieron para pasar a través de una malla de 1 mm en una batidora de alimentos (Oster 4655, México). Los compuestos bioactivos se determinaron a partir de esta muestra molida.

Contenido de compuestos fenólicos libres y ligados.

Para la extracción, se agregaron 10 mL de metanol al 80% a una muestra de 1 g y se sumergió en un baño ultrasónico por 60 min a temperatura ambiente. La mezcla se centrifugó a 2500 g durante 10 minutos y luego se eliminó el sobrenadante. El sedimento se sometió a dos extracciones sucesivas en 5 mL de metanol al 80%; los sobrenadantes se mezclaron, se filtraron y se llevaron a 20 ml. Se utilizó el método descrito por Sosulski (Sosulski et al., 1982) para la extracción de fenoles ligados. Para la cuantificación, 1 mL de solución acuosa de Na_2CO_3 al 0.5% (p / v) y 1 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu (2

mol/L, HYCEL, México) se diluyeron 10 veces en agua y se agregaron a los extractos (1 mL en triplicado). Las muestras se protegieron de la luz y se agitaron antes de dejarlas durante 1 hora a 25 ° C. La absorbancia de las muestras se midió a 750 nm usando un espectrofotómetro UV-visible (Shimadzu UV-1800, Japón). El contenido de compuestos fenólicos libres y unidos se obtuvo comparando la absorbancia con una curva de calibración ($r^2 = 0,993$) utilizando estándares de ácido gálico (entre 0 y 150 ppm). Los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido gálico (GAE) por 100 g de muestra en base seca.

Contenido de flavonoides.

Para la preparación de los extractos se pesaron 500 mg de cada muestra en polvo y se agregaron 5 mL de metanol-agua (80: 20, v / v). Las muestras se procesaron en un baño ultrasónico durante 30 minutos y luego se centrifugaron a 27 200 g durante 15 minutos. Se separó el sobrenadante y se extrajo el residuo dos veces más. Los sobrenadantes se mezclaron y se llevaron a un volumen final de 30 ml. Luego, se agregaron 150 μ L de NaNO₂ al 5% a los extractos (3 mL por triplicado) y se incubaron durante 5 minutos a temperatura ambiente. Luego, se agregaron 150 μ L de AlCl₃·6H₂O al 10%, y después de seis minutos, se agregó 1 mL de 1 mol/L de NaOH. La absorbancia se midió a 510 nm en un espectrofotómetro UV-visible modelo UV-1800 (Shimadzu, Japón). La absorbancia se comparó con una curva estándar (0-150 ppm de quercetina, $r^2 = 0,997$), y los resultados se expresan como mg equivalentes de quercetina por g de muestra seca.

Contenido de antocianinas.

La determinación de las antocianinas totales se realizó según el procedimiento establecido por Abdel-Aal & Hucl 1999 (Abdel-Aal & Hucl, 1999) con ligeras variaciones. Para la extracción, se agregaron 5 mL de metanol acidificado con 1 mol/L de HCl a una muestra de 1 g, se agitó durante 30 minutos y se centrifugó a 27 200 g durante 15 minutos. Se separó el sobrenadante y el sedimento se sometió a dos extracciones sucesivas. Se combinaron los sobrenadantes y se llevó su volumen a 20 ml en un matraz aforado. Después de extraer las antocianinas, se midió la absorbancia espectrofotométricamente a 535 y 700 nm usando un espectrofotómetro UV-visible (Shimadzu UV-1800, Japón). El contenido total de antocianinas se expresa como equivalentes de cianidin 3-glucósido en mg por 100 g y se calculó con la siguiente ecuación:

Ecuación 1 Cálculo de antocianinas totales

$$\text{Antocianinas totales} = (A/\varepsilon) \times (\text{Vol}/1000) \times \text{MW} \times (1/\text{WT}) \times 10^6$$

Donde la absorbancia es $A=(A_{530}-A_{700})$, ε es el coeficiente de absortividad molar (para cianidyn 3-glucósido es $=25\ 965\ \text{cm}^{-1}\ \text{M}^{-1}$), Vol es el volumen total del extracto, MW es el peso molecular de cianidyn 3-glucósido= 449, y WT es el peso total de la muestra en base seca.

Capacidad antioxidante.

Para determinar la capacidad antioxidante (expresada como equivalentes μmol de Trolox por gramo de muestra), se utilizaron tres metodologías: capacidad de captación de radicales 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH), poder reductor / antioxidante férrico

(FRAP) y capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC). Los mismos extractos metanólicos se utilizaron para la determinación de flavonoides.

Para el método DPPH (Sigma, Aldrich), se tomaron 100 μL de cada extracto y se agregaron 2,9 mL de solución DPPH (50 mg por 100 mL). Todas las reacciones se llevaron a cabo durante 30 minutos a temperatura ambiente. La absorbancia a 515 nm frente a la diana (sin extracto) se midió en un espectrofotómetro UV-visible (Shimadzu UV-1800, Japón). Se generó una curva estándar ($r^2 = 0.998$) con 5 concentraciones de Trolox (0.133, 0.266, 0.399, 0.532, 0.665 y 0.799 $\mu\text{mol/mL}$).

Se hicieron tres mezclas para la preparación del reactivo FRAP: tampón de acetato de sodio 300 mM (pH 3,6) / TPTZ 10 mM / cloruro férrico hexahidrato 20 mM en una proporción de 10: 1: 1. Luego, se agregaron 100 μL de cada extracto a 3 mL del reactivo FRAP y se incubó durante 30 min a 37 ° C, y se midió la absorbancia a 593 nm contra el blanco (sin extracto) en un espectrofotómetro UV-visible (Shimadzu UV -1800, Japón). Los resultados se compararon con una curva estándar (0-1000 $\mu\text{mol Trolox/L}$; $r^2 = 0,998$).

Para la capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC), se molieron basidiocarpos secos de *P. agaves*, harinas y tortillas hasta obtener un polvo fino. El análisis de basidiocarpos [$\mu\text{mol equivalentes de Trolox (TE) por g}$] incluyó la adición de 20 mL de acetona en agua (50:50, v / v) como solvente de extracción para 1.0 g de muestra en polvo. El extracto se centrifugó a 21 036 g durante 15 min y el sobrenadante se usó para el análisis después de una dilución adecuada con solución tampón. El reactivo y la preparación estándar se realizaron como sigue: se disolvieron 0.414 g de

AAPH en 10 ml de tampón fosfato 75 mM (pH 7.4) hasta una concentración final de 153 mM y se mantuvo en un baño de hielo. Se preparó una solución madre (0.02 M) de estándar Trolox en 50 ml de tampón fosfato 75 mM (pH 7.4). A continuación, la solución madre se diluyó con el mismo tampón fosfato hasta soluciones de trabajo 50, 25, 12,5 y 6,25 μ M. Se añadió fluoresceína (4 nM, 150 μ l) a cada mezcla de reacción. La fluorescencia se midió en un lector de placas BioTek Synergy HT (Bio Tek Instruments).

Para relacionar los compuestos bioactivos y su capacidad antioxidante se hizo correlación de pearson.

Propiedades físicas de harinas, masas y tortillas

Análisis pasting en harinas.

El perfil de pasting se midió con el uso de un viscosímetro analizador RVA-4 Rapid Visco (Newport Scientific PTY Ltd, Sydney, Australia). El contenido de humedad se ajustó al 14% mediante el método no. 14-15 de AACC, 1983 (AACC, 1983). La homogeneización de la muestra se llevó a cabo en 10 s a 960 rpm; el tiempo de calentamiento de la muestra de 50 ° C a 90 ° C fue de 300 s, y se mantuvo una temperatura constante de 90 ° C durante 300 s; finalmente, la muestra se enfrió para alcanzar 50 ° C durante 360 s. El tiempo total empleado en cada muestra fue de 16 min, donde la velocidad de agitación se mantuvo constante a 160 rpm. Se realizaron análisis por duplicado.

Textura de tortilla.

Se utilizó un analizador de textura TA-XT2 (Texture Technologies Corp., EE. UU.), Con los accesorios TA-96 y TA-90 (Texture Technologies Corp., EE. UU.), Para determinar las fuerzas de tracción y cizallamiento de las tortillas. La textura se obtuvo utilizando el accesorio TA-96, mientras que el accesorio TA-90 se utilizó para determinar la fuerza de corte. Ambas características se reportan en kg/f, y se analizaron al azar muestras de tortilla triplicadas de cada tratamiento.

Determinación del color en tortillas.

Para la determinación del color de la tortilla (Sánchez-Madrigal et al., 2014) se utilizó un colorímetro MiniScan XE, modelo 45/0-L (Hunter Associates Laboratory, 11491 Sunset Hill Rd., Reston, Virginia, EE. UU.). Las diferencias de color totales (SD) entre los diferentes períodos de tiempo se calcularon a partir de los valores CIELAB determinados: L^* , a^* y b^* .

Medición de pH.

Se utilizó el método 981.12 de la AOAC (2000) para determinar el pH del licor de cocción. Además, también se midió el pH de dispersiones al 10% (p / v) de cada harina y tortilla triturada.

Análisis sensorial y aceptabilidad de tortillas

Un total de 40 panelistas que consumen regularmente tortillas de maíz participaron en este estudio. Las tortillas se calentaron en placas de acero a 240 ° C y se entregaron

a los consumidores cubiertas con un paño de algodón. Se pidió a los panelistas que evaluaran lo siguiente en toda la tortilla: apariencia general, color, grosor, capacidad de enrollado, resistencia al desgarro, aroma, masticabilidad y sabor general. Se pidió a los panelistas que calificaran estos atributos en una escala hedónica de 9 puntos (1 = no me gusta mucho, 2 = no me gusta mucho, 3 = no me gusta moderadamente, 4 = no me gusta un poco, 5 = no me gusta o no me gusta, 6 = me gusta ligeramente, 7 = como moderadamente, 8 = como mucho, 9 = como extremadamente).

Análisis de resultados

Los análisis estadísticos se realizaron con el software Minitab 17 Statistical 2010 (Minitab, LLC, EE. UU.). Todas las determinaciones se realizaron por triplicado, excepto el análisis del perfil de pasting de harina, que se realizó por duplicado. Los resultados se expresan como la media ± 1 desviación estándar (DE). Los valores medios obtenidos para las variables fisicoquímicas, es decir, el contenido de compuestos bioactivos y las propiedades sensoriales y reológicas, se compararon mediante un análisis de varianza unidireccional, y las medias se compararon mediante la prueba de Tukey ($\alpha = 0,05$). Para los análisis próximos y determinación de compuestos bioactivos se realizó un análisis descriptivo de las muestras de hongos y maíz. Los compuestos bioactivos se determinaron en materia prima, harinas nixtamalizadas y tortillas enriquecidas y no enriquecidas. En los análisis aproximados de tortillas de maíz elaboradas con harina nixtamalizada, se realizó un análisis de varianza unidireccional y se compararon las medias mediante la prueba de Tukey (alfa = 0.05).

Para la evaluación sensorial y aceptabilidad de las tortillas se realizó un análisis de componentes principales (Hair et al., 2018), y un análisis paralelo (Horn, 1965) para determinar el número de componentes útiles. Para ambos análisis se utilizó el programa R Core Team v. 4.0.0 (2020).

V. RESULTADOS

Análisis próximos

La **Tabla III** muestra los resultados de análisis aproximales de las materias primas utilizadas (hongos y maíz) y tortillas. El hongo *P. agaves* tuvo un alto contenido de proteína, fibra y ELN, mientras que el maíz mostró una alta concentración de ELN. En la **Fig. V** se muestran las tortillas con todos los tratamientos.



Figura V Tortillas elaboradas con diferentes tratamientos.

NT-0%: Nixtamalización tradicional y 0% de hongo, NT-9%: Nixtamalización tradicional y 9% de *P. agaves*.
NE-0%: Nixtamalización ecológica y 0% de hongo, NE-9%: Nixtamalización ecológica y 9% de *P. agaves*

El contenido de grasa aumentó en las tortillas elaboradas con NT y NE enriquecidas con un 9% de hongos en comparación con las tortillas hechas sin adición de hongos. Los contenidos de proteína, fibra y EFN no mostraron diferencias significativas con el enriquecimiento de hongos. El contenido calórico más alto se encontró en las tortillas NT-0% y NE-9%, mientras que el contenido calórico más bajo se encontró en las tortillas EN-0%.

Tabla III Análisis proximales de *P. agaves*, maíz azul VC-42, y tortillas elaboradas con nixtamalización tradicional y ecológica.

	Humedad (%)	Cenizas (%)	Grasa (%)	Proteínas (%)	Fibra dietaria (%)	ELN (%)	Calorías (kJ/kcal por 100 g)
<i>P. agaves</i>	6.06±0.30	3.38±0.17	8.04±0.21	16.24±0.52	37.40±1.15	39.30±1.55	274.11±4.83
VC-42	10.86±1.59	0.08±0.01	5.85±0.10	9.08±0.49	4.17±0.12	80.83±0.61	412.25±0.62
Tortillas							
NT-0%	42.88±1.17 a	1.76±0.15 a	1.80±0.07 d	11.45±0.69 a	3.13±0.23 a	79.21±0.72 a	402.72±0.89 a
NT-9%	44.39±1.80 a	1.86±0.33 a	2.40±0.08 c	11.73±1.35 a	3.28±0.28 a	80.99±2.11 a	390.14±2.10 c
NE-0%	42.87±0.20 a	1.51±0.11 a	2.79±0.46 b	11.28±0.84 a	3.27±0.16 a	81.15±0.69 a	384.84±2.78 d
NE-9%	41.78±0.36 a	1.69±0.26 a	3.50±0.15 a	12.19±0.58 a	3.77±0.19 a	78.91±0.84 a	395.66±0.62 b

NT-0%: Nixtamalización tradicional y 0% de hongo, NT-9%: Nixtamalización tradicional y 9% de *P. agaves*. NE-0%: Nixtamalización ecológica y 0% de hongo, NE-9%: Nixtamalización ecológica y 9% de *P. agaves*. ELN: Extracto libre de nitrógeno.

Todos los parámetros se calculan sobre una base seca.

± Desviación estándar.

Las letras diferentes en la misma columna son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

Contenido de compuestos bioactivos

Los compuestos bioactivos (fenoles libres, fenoles ligados, fenoles totales, flavonoides, antocianinas y β -glucanos) se determinaron en hongos, maíz VC-42, harinas y tortillas (**Tabla IV**). El hongo *P. agaves* tuvo un alto contenido de fenoles totales y ligados, mientras que el maíz VC-42 mostró altas concentraciones de fenoles libres. Los contenidos de fenoles libres en las harinas enriquecidas y no enriquecidas no muestran diferencias significativas. Los contenidos de fenoles ligados y totales fueron mayores en los productos de *P. agaves* EN-0% y EN-9% (harina y tortillas) que en los de los grupos NT-0% y NT-9% ($p < 0.05$). Luego de la elaboración de las tortillas se observó un aumento

de fenoles libres y una reducción de fenoles ligados y totales en NE-0%, NE-9%, NT-0% y NT-9%.

Tabla IV Concentración de fenoles libres, ligados y totales, flavonoides, antocianinas, β -glucanos y capacidad antioxidante en maíz, hongo, harinas y tortillas.

	Fenoles (mg GAE/100 g b.s.)			Flavonoides (μ g QE /g b.s.)	Antocianinas (mg cya-3-glu/ 100 g b.s.)	β - glucanos (% b.s.)
	Libres	Ligados	Totales			
VC-42	262.07 \pm 5.49	540.08 \pm 87.90	802.16 \pm 89.89	4.16 \pm 0.13	314.81 \pm 4.53	1.22 \pm 0.20
<i>P. agaves</i>	513.17 \pm 25.24	129.52 \pm 25.65	642.69 \pm 13.69	16.38 \pm 0.42	-----	25.30 \pm 0.56
Harina						
NT-0%	240.45 \pm 8.910 a	675.50 \pm 20.72 b	915.96 \pm 26.34 b	3.40 \pm 0.20 d	82.33 \pm 0.67 c	1.22 \pm 0.02 b
NT-9%	261.90 \pm 17.80 a	713.02 \pm 41.57 b	974.90 \pm 26.34 b	5.73 \pm 0.25 b	73.83 \pm 1.51 d	3.32 \pm 0.01 a
NE-0%	241.98 \pm 12.95 a	939.15 \pm 6.47 a	1181.16 \pm 18.42 a	5.01 \pm 0.82 c	218.86 \pm 0.41 a	0.97 \pm 0.02 c
NE-9%	258.98 \pm 5.42 a	981.11 \pm 23.44 a	1241.09 \pm 18.42 a	7.56 \pm 0.08 a	161.24 \pm 0.26 b	3.18 \pm 0.01 b
Tortilla						
NT-0%	308.76 \pm 15.36 a	457.71 \pm 32.24 b	766.68 \pm 46.48 c	2.56 \pm 0.10 d	52.30 \pm 0.27 c	2.17 \pm 0.08 c
NT-9%	285.10 \pm 18.40 a	433.71 \pm 31.29 b	719.06 \pm 21.10 c	3.01 \pm 0.15 c	25.70 \pm 0.16 d	5.80 \pm 0.25 a
NE-0%	306.55 \pm 13.82 a	688.45 \pm 12.26 a	994.98 \pm 16.15 a	4.09 \pm 0.19 a	126.32 \pm 0.28 a	2.02 \pm 0.02 d
NE-9%	273.60 \pm 27.70 a	604.74 \pm 72.83 a	878.28 \pm 48.20 b	3.56 \pm 0.12 b	97.38 \pm 0.31 b	5.36 \pm 0.09 b

NT-0%: Nixtamalización tradicional y 0% de hongo, NT-9%: Nixtamalización tradicional y 9% de *P. agaves*. NE-0%: Nixtamalización ecológica y 0% de hongo, NE-9%: Nixtamalización ecológica y 9% de *P. agaves*. ELN: Extracto libre de nitrógeno.

Todos los parámetros se calculan sobre una base seca.

\pm Desviación estándar.

Las letras diferentes en la misma columna son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

Para el contenido de flavonoides, se encontró una menor concentración de flavonoides en las harinas NT-0% y NE-0% que en las harinas NT-9% y NE-9% ($p < 0.05$). Sin embargo, en las tortillas, el contenido de flavonoides disminuyó en comparación con el de las harinas, pero fue mayor en las tortillas EN-9% que en las tortillas NT independientemente del enriquecimiento de hongos ($p < 0.05$).

El contenido de antocianinas fue mayor en las harinas y tortillas NE-0% y NE-9% que en los grupos NT-0% y NT-9% ($p < 0.05$). El contenido de β -glucanos aumentó luego de enriquecer las harinas con el hongo *P. agaves*, cuyo contenido continuó aumentando luego del proceso de cocción para producir tortillas ($p < 0.05$).

La capacidad antioxidante se muestra en la **Tabla V**. Luego de enriquecer las harinas con 9% de hongos, se observó un aumento en la capacidad antioxidante cuando se midió con las técnicas DPPH y FRAP ($p < 0.05$), mientras que con la tecnología ORAC se identificó una disminución ($p < 0.05$). Después de la cocción de la tortilla, se observó un aumento significativo de la capacidad antioxidante con la técnica ORAC ($p < 0.05$). No se encontraron diferencias significativas en relación al tipo de nixtamalización.

Tabla V Capacidad antioxidante por tres métodos, ORAC, DPPH y FRAP

Sample	ORAC ($\mu\text{mol ET/g d.b.}$)	DPPH ($\mu\text{mol ET/g d.b.}$)	FRAP ($\mu\text{mol ET/g d.b.}$)
VC-42	59.34 \pm 21.45	34.31 \pm 0.75	20.49 \pm 0.09
<i>P. agaves</i>	172.78 \pm 20.61	39.25 \pm 0.37	22.11 \pm 0.05
Flour			
NT-0%	223.05 \pm 53.71 a	14.72 \pm 0.19 a	20.49 \pm 0.09 c
NT-9%	129.40 \pm 33.04 b	15.20 \pm 0.04 a	22.11 \pm 0.05 b
NE-0%	193.32 \pm 49.14 a	12.82 \pm 0.23 b	17.01 \pm 0.32 d
NE-9%	153.66 \pm 37.99 b	15.07 \pm 0.22 a	23.31 \pm 0.19 a
Tortilla			
NT-0%	306.21 \pm 86.11 b	21.50 \pm 0.30 a	26.02 \pm 1.01 a
NT-9%	495.08 \pm 43.75 a	20.98 \pm 0.97 a	25.18 \pm 0.95 ab
NE-0%	347.39 \pm 64.68 b	20.69 \pm 0.30 a	25.91 \pm 0.45 b
NE-9%	491.79 \pm 76.18 a	20.18 \pm 0.16 a	23.75 \pm 0.19 b

NT-0%: Nixtamalización tradicional y 0% de hongo, NT-9%: Nixtamalización tradicional y 9% de *P. agaves*. NE-0%: Nixtamalización ecológica y 0% de hongo, NE-9%: Nixtamalización ecológica y 9% de *P. agaves*. ELN: Extracto libre de nitrógeno.
 Todos los parámetros se calculan sobre una base seca.
 \pm Desviación estándar.
 Las letras diferentes en la misma columna son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

Tabla VI. Coeficientes de correlación de la técnica de DPPH vs la concentración de compuestos bioactivos

Correlación	Coefficiente de pearson (r)	Coefficiente de correlación (r^2)
DPPH vs Fenoles totales	-0.56	0.31
DPPH vs Flavonoides	-0.74	0.55
DPPH vs Antocianinas	-0.59	0.35
DPPH vs β -glucanos	-0.47	0.21

Propiedades físicas de la harina y las tortillas

Los viscoamilogramas se muestran en la **figura VI**, de los gráficos se calcularon las propiedades reológicas de las harinas, masas y tortillas se presentan en la **Tabla VII**. Se observaron temperaturas de pasting más altas para los tratamientos sin hongos que para los enriquecidos con hongos. Los productos enriquecidos con hongos presentaron valores de retrogradación inferiores ($p < 0,05$) que los de los productos no enriquecidos. La textura de la masa y las tortillas enriquecidas con *P. agaves* se muestra en la **Tabla VII**. La adherencia y cohesión fue mayor en los productos que contienen hongos que en los que no los contienen. Los aumentos en la adhesividad y la cohesión están asociados con las propiedades de viscosidad producidas por los β -glucanos, como ya informaron Sánchez-Madrigal et al. (Sánchez-Madrigal et al., 2017) 13 y los hongos *P. agaves* tienen un contenido de β -glucanos del 33,33%.

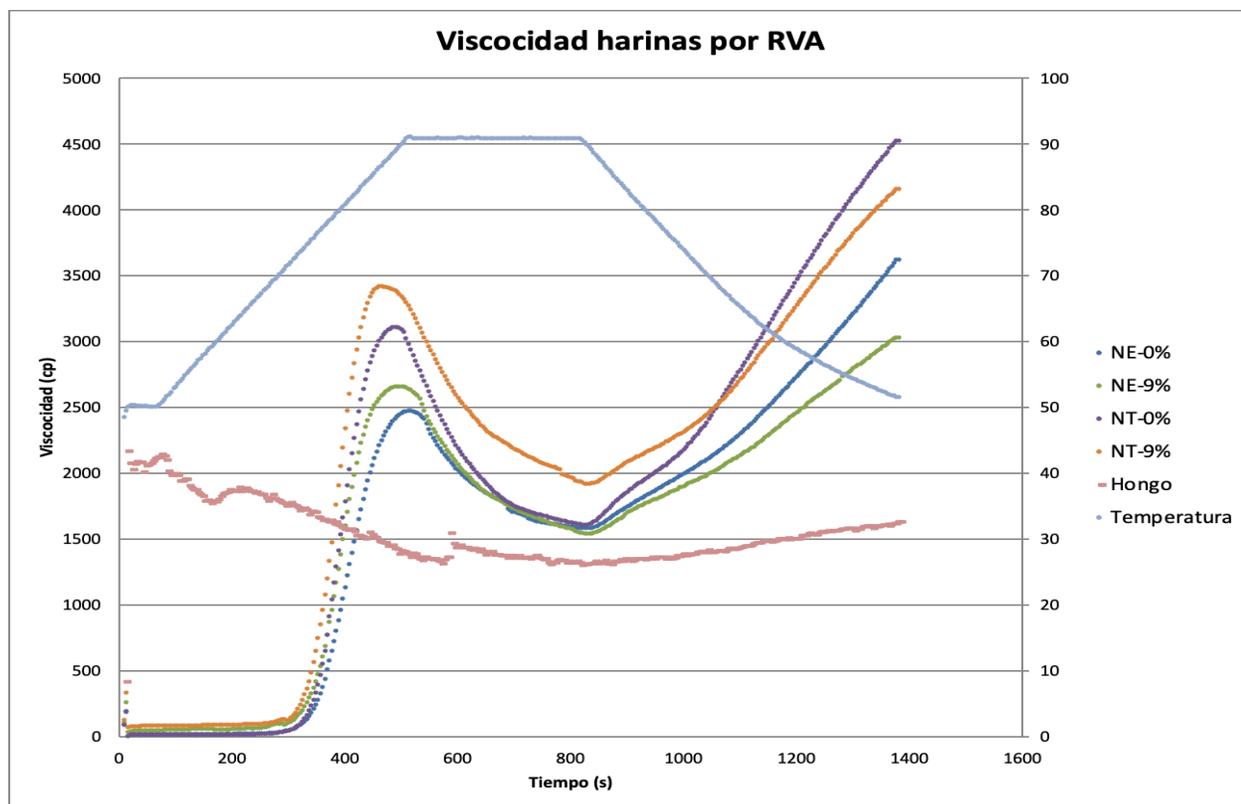


Figura VI Viscosidad en harinas.

TN-0%: tortillas elaboradas con nixtamalización tradicional; NT-9%: tortillas elaboradas con nixtamalización tradicional enriquecidas con 9% de *P. agaves*; NE-0%: tortillas elaboradas con nixtamalización ecológica; NE-9%: tortillas elaboradas con nixtamalización orgánica enriquecidas con un 9% de *P. agaves*.

Tabla VII Propiedades físicas y químicas de harinas y tortillas

	Muestra			
	NT-0%	NT-9%	NE-0%	NE-9%
Harinas				
PT(°C)	70.55± 1.76	69.25± 0.49	70.96± 1.26	68.45± 0.07
V _{max} (Cp)	3059± 76.37	3421± 2.08	2460± 19.09	2668± 9.89
V _{min} (Cp)	1704± 133.64	1835± 121.62	1590± 8.48	1509± 45.96
SB (Cp)	2919± 28.99	2241± 72.12	2037± 60.10	1492± 60.81
Adhesividad* (g)	141.41± 2.22	151.12± 10.39	117.83± 5.64	155.11± 3.58
Cohesividad* (g)	-18.50± 6.30	-27.17± 1.97	-13.19± 0.25	-17.19± 3.10
pH	7.67±0.33	7.16±0.16	5.65±0.08	5.74±0.23
Tortillas				
Esfuerzo a corte (g)	764.22± 7.03	706.44± 21.51	855.21± 43.04	966.23± 30.50
Esfuerzo a tensión (g)	146.72± 6.39	177.18± 4.68	175.51± 13.86	142.12± 8.07
ΔE Total	55.25± 0.95	54.90± 0.31	51.66± 0.23	52.47± 0.47
L*	45.24± 0.47 a	45.99± 0.24 a	42.83± 0.32 b	42.49± 0.95 b
a*	1.59± 0.21 b	1.94± 0.15 a	-1.28± 0.05 c	-2.62± 0.13 d
b*	5.63± 0.22 a	2.21± 0.09 b	5.42± 0.11 a	2.53± 0.04 b
pH	8.02±0.24	7.45±0.18	6.35±0.15	6.03±0.05

TN-0%: Traditional Nixtamalization and 0% of mushroom, TN-9%: Traditional Nixtamalization and 9% of mushroom. EN-0%: Ecological Nixtamalization and 0% of mushroom, EN-9%: Ecological Nixtamalization and 9% of mushroom.

PT pasting temperature, V_{max} : maximum viscosity, V_{min} : minimum viscosity, SB Seat Back, ΔE total color difference. *Adhesion y cohesion was measured in dough.

± Standard deviation.

Different letters in the same row are significantly different ($p < 0.05$).

Evaluación sensorial y aceptabilidad de tortillas

Se realizó una evaluación sensorial de tortillas producidas vía NT y NE y enriquecidas o no enriquecidas con *P. agaves*, y las puntuaciones asignadas por los panelistas se muestran en la **Fig. VII**. Las tortillas NT-0% y NE-9% fueron más aceptadas para resistencia al desgarro, capacidad de rodadura, apariencia general, sabor general y masticabilidad. Por aroma y color, la tortilla de hongo NT-9% fue la más aceptada, mientras que el grosor de la tortilla de hongo NE-0% fue la menos aceptada. El análisis paralelo indicó que dos componentes principales (93,18%) son suficientes para explicar la variación en los datos (PC1 = 69,51% y PC2 = 23,67). Las variables más importantes (**Tabla VIII**) de cada componente se ilustran en negrita.

La aceptación de las tortillas NT-0% y NE-9% se relacionó con las características de enrollabilidad, resistencia al desgarro, espesura, masticabilidad, sabor general y apariencia general. Estas características obtuvieron los valores más altos en la percepción de los entrevistados, y en los valores del primer componente principal. Mientras que NT-9% se asociaron más con aroma y color. Estas dos variables obtuvieron los valores más altos en el segundo componente principal. Por otro lado, las tortillas con NE-0% fueron las menos aceptadas ya que mostraron menor afinidad con los parámetros medidos (**Fig. VIII**).

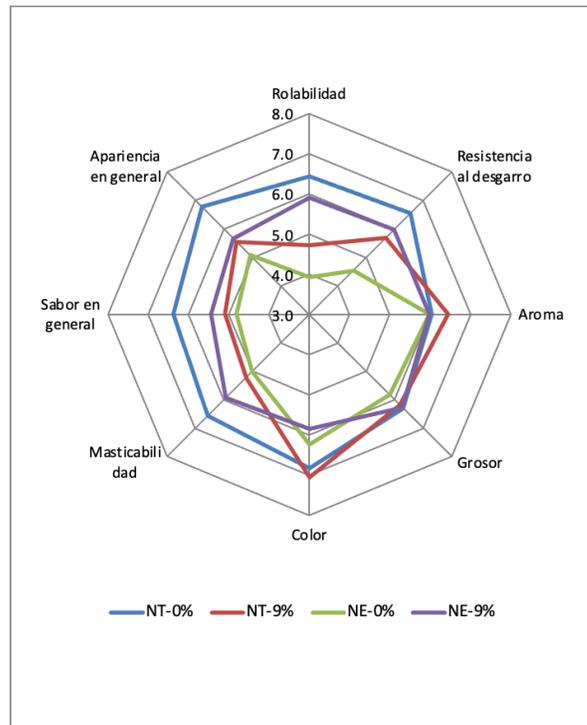


Figura VII Propiedades sensoriales evaluadas en tortillas de maíz azul y tortillas de maíz azul enriquecidas con el hongo *P. agaves*.

TN-0%: tortillas elaboradas con nixtamalización tradicional; NT-9%: tortillas elaboradas con nixtamalización tradicional enriquecidas con 9% de *P. agaves*; NE-0%: tortillas elaboradas con nixtamalización ecológica; NE-9%: tortillas elaboradas con nixtamalización orgánica enriquecidas con un 9% de *P. agaves*.

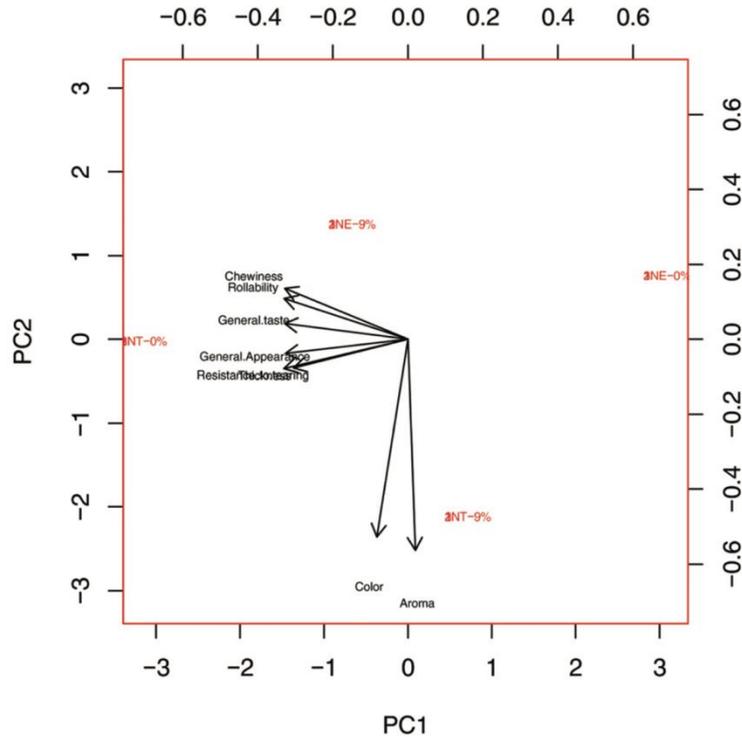


Figura VIII Análisis de componentes principales en análisis sensorial evaluado en tortillas de maíz azul y tortillas de maíz azul enriquecidas con el hongo *P. agaves*.

TN-0%: tortillas elaboradas con nixtamalización tradicional; NT-9%: tortillas elaboradas con nixtamalización tradicional enriquecidas con 9% de *P. agaves*; NE-0%: tortillas elaboradas con nixtamalización ecológica; NE-9%: tortillas elaboradas con nixtamalización orgánica enriquecidas con un 9% de *P. agaves*.

Tabla VII Matriz de componentes para determinar la relación de las variables más importantes de cada componente

	PC1	PC2
Rolabilidad	-0.412	0.136
Resistencia al desgarro	-0.413	-0.098
Aroma	0.025	-0.703
Grosor	-0.381	-0.096
Color	-0.103	-0.659
Masticabilidad	-0.410	0.170
Sabor en general	-0.410	0.052
Apariencia en general	-0.407	-0.048

VI. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Análisis proximales

Este es el primer estudio que muestra el análisis nutricional del hongo *P. agaves*, que se cultivó en paja de trigo. El contenido de proteína en *P. agaves* es mayor que el reportado para otros hongos *Pleurotus*; por ejemplo, Bonatti et al. (2004) reportaron 13.1% de proteína y 9.86% de contenido total de fibra para *Pleurotus ostreatus* cultivado en paja de arroz (Bonatti et al., 2004), mientras que encontramos contenidos correspondientes de 16.24% y 37.4% respectivamente, para *P. agaves*. Según Sturion y Oetterer (1995), el valor nutricional de los hongos puede verse afectado por el sustrato del cultivo, lo que podría ayudar a explicar algunas variaciones de nutrientes en diferentes tipos de hongos (Sturion & Oetterer, 1995). El contenido de EFN fue menor que el reportado para *Pleurotus ostreatus*. Las diferencias entre los contenidos de nutrientes en una base de 100 g hicieron que el contenido calórico del hongo *Pleurotus ostreatus* fuera un 9% más alto que el de *P. agaves*. Estos resultados sugieren que *P. agaves* es un hongo con un bajo contenido calórico, además de ser rico en fibra y proteína en comparación con otras especies de *Pleurotus*.

Así como el sustrato afecta el contenido nutricional de los hongos, el contenido nutricional del maíz también se ve afectado por la región y el clima donde fue sembrado, así como otros factores como el genotipo, antecedentes genéticos y composición porcentual del endospermo y pericarpio (Mora-Rochin et al., 2010). El maíz VC-42 utilizado en nuestro estudio tiene valores de proteína similares a los reportados por Maya-Cortés et al. (2010) (8,9%), mientras que en este estudio se encontró un contenido de proteína de 9,08%. Sin embargo, el maíz VC-42 tiene un 237% más de proteína que lo

reportado por Campechano Carrera et al. (2012), quienes registraron un contenido de proteína de 2.9% para el maíz blanco. El contenido de grasa también es mayor en el maíz VC-42, 5.85%, al reportado en los estudios antes mencionados (valores entre 0.3% y 4.66%) (Campechano Carrera et al., 2012; Maya-Cortés et al., 2010).

Durante la nixtamalización, aumenta el contenido de proteínas del maíz; sin embargo, debido al alto pH en NT, el pericarpio del maíz se hidroliza y con él se pierden algunos nutrientes, entre ellos vitaminas, grasas, proteínas, fibra dietética y algunos minerales (Campechano Carrera et al., 2012; Maya-Cortés et al., 2010). En contraste, nixtamalización ecológica, con un pH más bajo que el de la nixtamalización tradicional, reduce las pérdidas del pericarpio y por lo tanto retiene nutrientes como fibra y proteína (Campechano Carrera et al., 2012). Nuestro estudio confirma lo reportado por Maya-Cortés et al. (2010), quienes no encontraron diferencia significativa entre el contenido de proteína de las tortillas elaboradas con ambos métodos de nixtamalización (Maya-Cortés et al., 2010). Sin embargo, una cantidad de proteína entre 11.28% y 12.19% contenida en tortillas hechas con maíz VC-42 sometidas a NT y NE y enriquecidos o no enriquecidos con el hongo *P. agaves* fue superior a los reportados por Guevara-Arauz et al. (2011), quienes enriquecieron las tortillas de maíz con nopal y encontraron un contenido de proteína de 3.27% (Guevara-Arauz et al., 2011).

La pérdida de grasa fue mayor en NT que en NE ($p < 0,05$); sin embargo, *P. agaves* aportó grasa a las tortillas. Kayode y col. (2015) informaron que los principales ácidos grasos en los hongos *Pleurotus* son los ácidos grasos monoinsaturados como el ácido oleico, que representan el 40% de las grasas totales, mientras que el ácido linoleico

representa casi el 30% de las grasas poliinsaturadas totales de los hongos *Pleurotus* (Kayode et al., 2015). El contenido de fibra aumentó con la adición de *P. agaves* a la harina de maíz, tendencias similares encontró Sánchez-Madrigal et al. (2017) agregando diferentes concentraciones de β -glucanos (Sánchez-Madrigal et al., 2017). La fibra dietética es beneficiosa para el mantenimiento de la salud y la prevención de enfermedades de los consumidores, contribuye a la atenuación fisiológica, previene el estreñimiento y facilita la buena salud del colon (Sánchez-Madrigal et al., 2014).

Compuestos bioactivos

El contenido de compuestos bioactivos en el maíz también se ve afectado por los mismos factores que inciden en el contenido de macronutrientes en el grano de maíz, principalmente la relación relativa de endospermo y pericarpio, genotipo, antecedentes genéticos y el grado de madurez (Mora-Rochin et al., 2010; Rodríguez Méndez et al., 2013), y estos contenidos directamente. afectar la capacidad antioxidante.

Los ácidos fenólicos y los flavonoides componen los fenoles en los granos de maíz y pueden estar en forma libre o enlazados a biomoléculas como proteínas y carbohidratos estructurales (Adom & Liu, 2002). La mayoría de los ácidos fenólicos en el maíz se encuentran unidos, principalmente en los componentes de la pared celular, mientras que los flavonoides se encuentran principalmente en forma libre o soluble; en las antocianinas, que también son flavonoides, la porción ligada es relativamente baja (Cuevas Montilla et al., 2011). La conformación anatómica del grano de maíz explica el contenido de fenoles libres. Se ha informado que el germen contiene la mayor proporción

de fenoles libres, mientras que el pericarpio es rico en fenoles ligados (Rodríguez Méndez et al., 2013). El proceso nixtamalización tradicional promueve la pérdida del pericarpio y parte del germen, lo que provoca la lixiviación de compuestos fenólicos. Para el contenido de fenoles totales de harina con respecto al maíz crudo, Rodríguez Méndez et al. (2013) reportaron un aumento en los fenoles totales en los genotipos blancos y una reducción en los fenotipos amarillo, rojo y negro.

En nuestro estudio, encontramos aumentos de 14% para NT-0% y 47% para NE-0% en la harina. Mientras que las harinas enriquecidas aumentaron la cantidad de fenoles totales debido al aporte de los hongos *P. agaves*; en comparación con el maíz crudo, el aumento de los fenoles totales para los tratamientos enriquecidos fue del 21% para NT-9% y del 54% para NE-9%. La nixtamalización ecológica con un pH más bajo que la nixtamalización tradicional, disminuyó la liberación de ácidos fenólicos al licor de cocción. Campechano Carrera et al. (2012) explicaron que los enlaces éster entre el ácido ferúlico y los arabinosilanos, que contribuyen a la reticulación, debilitan el pericarpio y la pared celular, hidrolizan el enlace éster y liberan ácido ferúlico, que es el principal ácido fenólico en el maíz. El aumento los compuestos fenólicos podrían deberse a que comúnmente están unidos por enlaces éster a cadenas de hemicelulosa, principalmente con residuos de arabina, y también polimerizan con lignina a través del enlace éter (Klepacka & Fornal, 2006). Algunas estructuras que formaban parte de los fenoles enlazados se convirtieron en fenoles libres. Después de la nixtamalización, encontramos una pérdida de fenoles. Con respecto a las harinas, las tortillas presentaron pérdidas en contenido de fenol de 16% para NT-0%, 26% para NT-9%, 15% para NE-0% y 29% para NE-9%. Esto indicó que los fenoles de maíz eran más estables que los fenoles de hongos *P. agaves* durante

el proceso de cocción de las tortillas. A pesar de las pérdidas de fenol durante esta etapa, el contenido de fenol de las tortillas hechas con EN excedió el contenido de fenol del maíz crudo.

La comparación de las harinas de ambos tratamientos con maíz crudo reveló una pérdida de antocianinas de 73% para NT-0% y 30% para -NE-0%. Después de enriquecerlos con el hongo *P. agaves*, los porcentajes de pérdidas con respecto al maíz crudo aumentaron en 76% para NT-9% y 48% para EN-9%. La nixtamalización reduce los niveles de antocianinas porque durante este proceso, el maíz se expone al calor durante la cocción y los cambios de pH debido al uso de Ca(OH)_2 en NT y CaCl_2 en NE (Mora-Rochin et al., 2010). La forma más predominante de antocianinas es el ión flavilio. En medio alcalino, el ión flavilio es susceptible al ataque nucleofílico del agua, produciendo un carbinol pseudo-base (Cuevas Montilla et al., 2011). Por esta razón, las harinas NE con un pH de 5.65 conservan más antocianinas que las harinas NT con un pH de 7.67. Esto confirma lo reportado por Rodríguez Méndez et al. (2013), donde la harina NE retuvo más antocianinas que la harina NT. Después de enriquecerse con el hongo *P. agaves*, el pH de las harinas disminuyó: la harina NT-9% tenía un pH de 7.16 y la harina NE-9% tenía un pH de 5.74; con esta reducción, también se redujo la cantidad de antocianinas totales; estas disminuciones podrían deberse al contenido de antocianinas no aciladas, que se consideran relativamente inestables ante cambios de pH y temperatura (De Pascual-Teresa et al., 2002). Una comparación del contenido de antocianinas de las tortillas con el del maíz crudo mostró una pérdida del 83% para NT-0%, 91% para NT-9%, 59% para NE-0% y 69% para NE-9%. La pérdida de antocianinas en las tortillas se debió al tratamiento térmico. Se ha sugerido que la rápida destrucción

de las antocianinas a altas temperaturas podría deberse a la hidrólisis de la estructura 3-glicósido que tiene un efecto protector sobre las antocianinas inestables. Otra sugerencia son las reacciones que producen un color marrón en alimentos que contienen antocianinas; estas reacciones se basan en la producción de chalconas a partir de la hidrólisis del anillo pirílico (Giusti & Wrolstad, 2005). Las tortillas NE-0% y NE-9% tenían mayores contenidos ($p < 0.05$) de antocianinas que las del NT-0% y NT-9% tortillas.

El consumo de fibra dietética está asociado con la prevención de varias enfermedades cardiometabólicas crónicas, como la diabetes tipo 2 y las enfermedades cardiovasculares. Por esta razón, las pautas dietéticas mundiales tienden a incluir un alto consumo de fibra en sus recomendaciones. La ingesta diaria recomendada es de 25 a 38 g de fibra (FAO, 2002). Entre las fuentes de fibra dietética, los β -glucanos de cereales son uno de los tipos de fibra más eficaces para prevenir la diabetes tipo 2 y las enfermedades cardiovasculares. Los β -glucanos contenidos en 100 gramos de maíz VC-42 cubren el 4.88% de los requerimientos diarios de fibra, mientras que los β -glucanos contenidos en 100 gramos de *P. agaves* cubren el 100% de los requerimientos diarios.

Se ha demostrado que los β -glucanos contenidos en especies de hongos funcionales y medicinales tienen la capacidad de disminuir los niveles de colesterol plasmático en modelos in vivo debido a diferentes mecanismos de acción, como la disminución del nivel de absorción de lípidos del intestino y, como consecuencia, aumenta la excreción de colesterol y ácidos biliares en las heces (Meneses et al., 2016). Otro mecanismo de la acción antihiperlipidémica de los β -glucanos de hongos radica en el efecto prebiótico que ejercen cuando se consumen aumentando las especies de

Lactobacilos, que tienen la capacidad de reducir la sangre niveles de colesterol, posiblemente como resultado de la acción de la enzima bacteriana sal biliar hidrolasa, que puede afectar la reabsorción de colesterol en el intestino (Caesar et al., 2010).

Se han estudiado varios hongos *Pleurotus* y tienen efectos benéficos a la salud, dichas propiedades se han relacionado con el contenido de β -glucanos, debido a la capacidad que tienen para formar soluciones viscosas en combinación con el agua. Dicha viscosidad hace que los β -glucanos retrasen el vaciamiento gástrico e interfieran con el contacto entre enzimas pancreáticas y sus substratos en el lumen intestinal, limitando los procesos de digestión y absorción de los nutrientes (Dikeman & Fahey, 2006).

La composición química de los hongos *P. agaves* es similar al de otros hongos comestibles y podría ser comparable con los efectos que podrían ocasionar en la salud humana. En fresco contienen entre el 80-90% de humedad, así que, de 100 gramos de hongos frescos se podrán obtener 10 gramos después de un tratamiento de secado, de los cuales, 1.6 gramos son proteína y cerca de 4 gramos son polisacáridos de alto peso molecular, que corresponden 2.5 gramos de β -glucanos y el resto de α -glucanos. En los hongos, uno de los componentes más relevantes es la lovastatina, el cuál es un principio activo que actualmente se utiliza para el control de la hipercolesterolemia, debido a que tiene efectos inhibidores en la HMG-CoA reductasa, que es la enzima que regula el paso limitante en la producción de colestereol endógeno (Piska et al., 2017)

También se podría sugerir la presencia de ergosterol, que puede tener efectos hipocolesterolémicos con dos posibles mecanismos principales, el primero de ellos es

obstaculizando la absorción del colesterol exógeno en el intestino, al desplazar el colesterol en las micelas que se van formando en la digestión, y el segundo es promoviendo la excreción del colesterol a través de la regulación de la expresión de genes relacionados con el metabolismo del colesterol en hígado (SREBP-2, LDL-R y CYP7A1) (Wen-Sen et al., 2020)

Alam et al., propone dos mecanismos de acción para explicar la reducción de colesterol plasmático y triglicéridos. El primero es la inhibición de la actividad de la HMG-CoA reductasa por parte de la Mevinolina o Lovastatina, sustancia que se encuentra dentro de los hongos comestibles, y por este efecto disminuyendo la producción de colesterol endógeno. El segundo mecanismo de acción propuesto es que los β -glucanos forman un gen que se une a los ácidos biliares, inhibiendo la formación de las micelas de bilis-colesterol, inhabilitando a su vez la reabsorción del colesterol.

Existe un interés creciente en la determinación de la capacidad antioxidante porque los antioxidantes son importantes para mantener la salud humana (Adebayo et al., 2018). El maíz y los hongos son una fuente natural de antioxidantes debido a su contenido de flavonoides, fenoles y otros compuestos bioactivos. Mientras que el maíz azul es de interés por su contenido de antocianinas, los hongos son de interés por su contenido de antioxidantes y de β -glucanos, que son conocidos por sus propiedades funcionales y medicinales (Meneses et al., 2016).

Se han utilizado con frecuencia varios métodos para determinar la capacidad antioxidante en vegetales y sus productos alimenticios para estudios clínicos. En nuestro

estudio incluyen los siguientes ensayos: la capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC) utilizando un oxidante beta-ficoeritrina como sustrato, el poder antioxidante reductor férrico (FRAP) y el 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo. (DPPH) capacidad de captación de radicales, basada en la premisa de que un donante de hidrógeno es un antioxidante; esta última prueba utiliza el radical DPPH que cambia de morado a amarillo en presencia de antioxidantes, lo que es muy útil en estudios preliminares (Joon-Kwan & Takayuki, 2009).

Se han mostrado resultados diferentes entre los métodos de prueba y los laboratorios. Algunos informes indican que no existe correlación entre la actividad antioxidante determinada por las técnicas FRAP y ORAC. Sin embargo, se ha informado que la prueba ORAC es más relevante que las otras dos técnicas porque utiliza una fuente de radicales biológicamente relevante (Mesa-Vanegas et al., 2015); la prueba ORAC también se ha utilizado ampliamente en muchos estudios recientes de plantas ya que tiene la ventaja de combinar el porcentaje de inhibición y la duración de la inhibición de los radicales libres en una sola cantidad. Los aumentos en la capacidad antioxidante de las harinas a las tortillas cocidas podrían atribuirse a la biodisponibilidad de los β -glucanos activos (Du & Xu, 2014), así como a otros compuestos bioactivos como los compuestos fenólicos, que presentan una mayor biodisponibilidad después de la cocción.

Según el Departamento de Agricultura de Estados Unidos, el consumo de alimentos con altos valores de ORAC “puede ayudar a retardar los procesos asociados al envejecimiento tanto en el cuerpo como en el cerebro”, y recomienda el consumo de diferentes alimentos, entre ellos, ciruelas pasas con Valores de ORAC de 5770 μmol

equivalentes de Trolox por 100 g de base húmeda y alimentos con valores de ORAC más bajos como las berenjenas, con un valor de ORAC de 390 μmol de ET por 100 g de base húmeda (U.S.D.A., 1999). En este estudio, se observaron valores de ORAC relativamente altos; en base húmeda, las tortillas tenían las siguientes capacidades antioxidantes en μmol ET por 100 g: 17490 para NT-0%, 27530 para NT-9%, 19 848 para NE-0% y 28 634 para NT-9%.

Las mediciones realizadas de compuestos bioactivos en esta tesis fueron de tipo cuantitativo, más no cualitativo, por ello será difícil establecer que compuesto es el que está aportando mayor capacidad antioxidante, y en este sentido procedí a la realización de una correlación lineal entre el contenido de fenoles totales, flavonoides, antocianinas y β -glucanos en las tortillas con la capacidad antioxidante. Para este ejercicio elegí los resultados de la técnica de DPPH al ser una técnica mixta, los resultados se encuentran en la **Tabla VI**.

En todas las correlaciones el coeficiente de pearson fue negativo, indicando correlaciones de la misma naturaleza, en valores de r^2 se observa con claridad que los flavonoides son los compuestos que mayor correlación presentan con los valores de DPPH, indicando que este tipo de compuestos son los mas asociados a estos valores de capacidad antioxidante.

Habrá que recordar que los flavonoides son el grupo más importante de los polifenoles, siendo los más abundantes en los alimentos de origen vegetal. Los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular que junto con los difenilpiranos

comparten un esqueleto en común (C6-C3-C6), la capacidad antioxidante depende de las propiedades redox de sus grupos hidroxifenólicos y de la relación estructural entre las diferentes partes de la estructura química, la estructura base permite una gran variedad de compuestos que se pueden clasificar en flavanos, flavonoles, flavonas, Antocianidinas (Martínez-Flórez et al., 2002).

Propiedades físicas de la harina y las tortillas

El pericarpio y la aleurona del maíz, que contiene principalmente hemicelulosa, celulosa y proteínas, se retienen durante diferentes partes del proceso cuando se utiliza NE (Campechano Carrera et al., 2012). Un menor grado de gelatinización del almidón y un mayor contenido de fibra insoluble que los que se producen durante la NT conducen a una masa menos elástica y viscosa (Santiago-Ramos et al., 2018). La masa se considera una red de polímeros de almidón solubilizados con gránulos de almidón sin cocer e hinchados, fragmentos celulares, proteínas y lípidos dispersos (Quintanar-Guzmán et al., 2011). Los valores más bajos de temperatura de pasting para las masas enriquecidas iniciaron la gelatinización de los almidones en una temperatura relativamente baja; los valores más bajos de retroceso con el enriquecimiento de hongos que sin el enriquecimiento de hongos sugirieron una mayor conservación de sus propiedades sensoriales durante el almacenamiento. El proceso de nixtamalización tradicional produce una masa con la cohesión y adhesividad adecuadas. Una masa con baja adhesividad tiene valores de cohesión relativamente altos. Ruiz Gutiérrez sugirió que la absorción relativamente alta de calcio por los granos durante la nixtamalización podría ser la causa de una alta cohesión y bajos valores de adhesividad (Ruiz-Gutiérrez

et al., 2012). Sin embargo, estos cambios también pueden estar relacionados con la adición de *P. agaves*; Los incrementos en los valores de adhesividad y cohesión están asociados con las propiedades de viscosidad producidas por los β -glucanos, según lo informado por Limberger- Bayer en 2014 y Zhu en 2016. (Limberger-Bayer et al., 2014; Zhu et al., 2016).

Evaluación sensorial y aceptabilidad de tortillas

Los panelistas encontraron diferencias entre las tortillas que consumen con frecuencia (NT-0%) y las de todos los demás grupos de tratamiento. Esto podría sugerir que los consumidores frecuentes pueden detectar cambios en la nixtamalización y el enriquecimiento con *P. agaves*. Las tortillas NT-0%, que obtuvieron los valores más altos de a^* (+ rojo, -verde) y b^* (+ amarillo, -azul), y las tortillas NT-9%, que obtuvieron los valores más bajos de a^* y b^* , fueron las más aceptadas, mientras que las tortillas menos aceptadas tuvieron valores intermedios de los parámetros antes mencionados. Adicionalmente, las tortillas NT-0% y NT-9% obtuvieron los valores más altos en luminosidad. El porcentaje de retención de antocianinas que se explicó en las secciones anteriores podría ayudar a explicar estos cambios de color. Las antocianinas aciladas retienen más color a valores altos de pH que otras antocianinas y muestran resistencia a otros factores que están presentes durante la elaboración de la tortilla, como el calor y la luz (Brouillard et al., 2003). Además, los cambios de pH cuando se agregó el hongo *P. agaves* podría explicar los cambios de color.

La adición de hongos fue apenas perceptible para los consumidores en términos de aroma, mientras que para la resistencia al desgarro, las tortillas más aceptadas fueron las de los grupos NT-0% y NE-9%, y las tortillas menos aceptadas fueron las de los grupos NT-9% y NE-0%; se encontraron tendencias similares para los atributos de capacidad de rodadura, apariencia general y masticabilidad; esta tendencia también se encontró para el estrés torsional presentado en la **Tabla VI**. Las tortillas NT-0%, siendo las tortillas más consumidas por todos los panelistas, mostraron mayor aceptación en términos de enrollabilidad, resistencia al desgarro, aroma, grosor, color, masticabilidad, y apariencia general que las otras tortillas. Por el contrario, las tortillas NT-9% en comparación con las tortillas NT-0% tenían una aceptabilidad reducida en términos de capacidad de enrollado, masticabilidad, sabor general y apariencia general, mientras que los atributos de aroma y color mejoraron, lo que sugiere que la adición de los hongos *P. agaves* a la harina de maíz para la preparación de tortillas mejoraron la calidad de su color y aroma. Las tortillas NE-0% obtuvieron el puntaje más bajo de las propiedades sensoriales evaluadas entre todos los tratamientos; cuando se agregaron los hongos *P. agaves*, la aceptabilidad aumentó; la aceptabilidad de las tortillas NE-9% se acercó más a la de las tradicionalmente consumidas por la población mexicana (NT-0%).

Aplicación potencial del nuevo producto

Los diferentes tipos de tortillas son un alimento popular en todos los niveles sociales de México y otros países de América Latina. Las tortillas de maíz azul que contienen *P. agaves* (9%) aumentaron las propiedades nutricionales y funcionales, en particular el contenido de proteínas, fibra dietética y β -glucanos y la capacidad

antioxidante del nuevo producto (**Tabla VIII**). El costo de producción de esta mejora aumentó solo en un 62%. La aplicación potencial de este proceso es alta, considerando que el hongo de maguey se puede producir a gran o pequeña escala (Carrera & Juarez, 2016). En áreas rurales, las tortillas de maíz azul enriquecidas con el tradicional hongo de maguey se pueden utilizar para consumo doméstico y / o para comercialización. En los mercados populares para generar ingresos adicionales. En áreas urbanas, este producto representa un producto de valor agregado cuya producción comercial es económicamente factible, considerando los beneficios para la salud aquí descritos.

Tabla VIII Incremento de las propiedades nutricionales y funcionales de las tortillas de maíz azul al agregar el tradicional hongo maguey (*Pleurotus agaves*), incluyendo la influencia en el costo de producción.

Tortillas	Proporción de incremento (%)				Costo de producción
	Proteína	Dieta Fibra	β -glucanos	ORAC	
NT-9%	+0.28	+0.15	+3.63	+61.68	62
NE-9%	+0.91	+0.5	+3.34	+41.57	62

Una tortilla comercial con un peso de 44 g (peso aproximado de una tortilla y equivalente a una porción de cereal en la dieta mexicana) según un informe del USDA(U.S.D.A., 1999) proporciona aproximadamente la misma cantidad de calorías que cualquiera de las cuatro tortillas presentadas en este artículo (**Tabla IX**).

Tabla IX Contribución nutricional de una porción de tortilla equivalente a 44g

Nutriente	CT	TN-0%	TN-9%	EN-0%	EN-9%
Grasa (g/t)	1.25	0.43	0.59	0.70	0.90
Proteína (g/t)	2.51	2.88	2.86	2.84	3.12
Fibra (g/t)	2.77	0.79	0.80	0.82	0.97
ELN (g/t)	19.6	19.91	19.83	20.40	20.20
Calorías/t	95.9	94.99	96.04	99.25	101.36
Fenoles totales (mg GAE/t)	NR	192.66	105.51	150.08	134.98
Flavonoides μ g QE/i	NR	0.64	0.74	1.03	0.91
Antocianinas (mg cya-3-glu/t)	NR	13.15	6.29	31.76	24.95
β -glucanos (g/t)	NR	0.95	2.55	0.89	2.36
ORAC (μ mol ET/t)	NR	80.33	121.23	87.30	125.94

t:tortilla, NR: no reportado, ELN: extracto libre de nitrógeno

Sin embargo, el contenido de proteína en las tortillas novedosas producidas en este estudio fue aproximadamente dos veces mayor que en una tortilla convencional. Este aumento en el contenido de proteínas es importante, especialmente si el consumo de estas tortillas ocurre en poblaciones vulnerables. En cuanto al contenido de compuestos bioactivos, las tortillas comerciales no reportan su contenido; sin embargo, se recomienda el consumo de 1 g de fenoles al día, además de 2.5 mg de antocianinas por cada kg de peso corporal (Guzmán-Gerónimo et al., 2017), y para obtener los efectos beneficiosos de los β -glucanos, el consumo de 1 g por persona es recomendado (Kurek et al., 2015). En este sentido, el consumo de una tortilla enriquecida con 9% de hongos *P. agaves* excede la cantidad recomendada de β -glucanos.

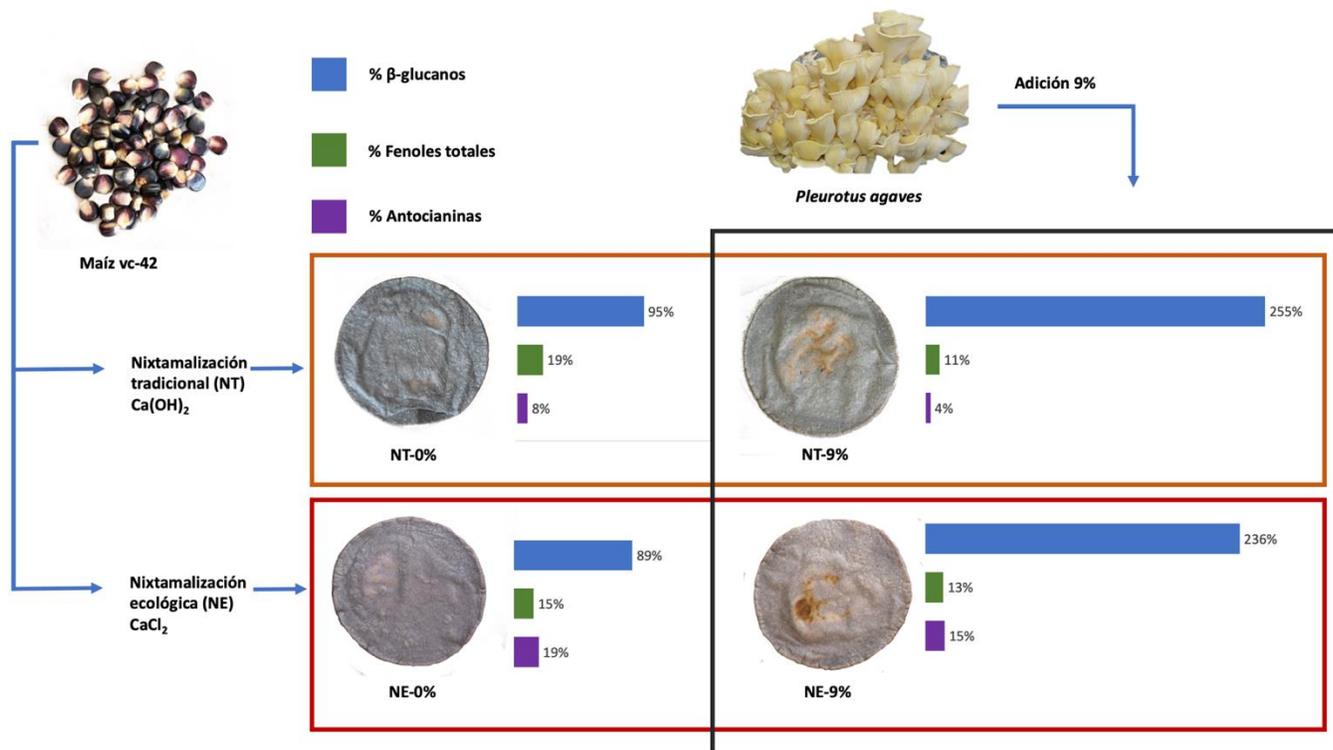


Figura IX. Porcentaje de compuestos bioactivos que cubre el consumo de una tortilla con peso de 44 g. NT-0%: Nixtamalización tradicional y 0% de hongo, NT-9%: Nixtamalización tradicional y 9% de *P.agaves*. NE-0%: Nixtamalización ecológica y 0% de hongo, NE-9%: Nixtamalización ecológica y 9% de *P. agaves*

VII. CONCLUSIONES

Este es el primer estudio que analiza las propiedades nutricionales del hongo *P. agaves*. Se demostró que las tortillas enriquecidas con *P. agaves* tienen una capacidad antioxidante mucho mayor. Sin embargo, el contenido de compuestos como antocianinas y flavonoides se redujo debido a la alta temperatura aplicada durante la nixtamalización y la cocción de las tortillas.

El uso de la nixtamalización ecológica conservó más compuestos bioactivos, así como proteínas y grasas, que los conservados durante la NT. El hongo agregado a las tortillas aumentó la cantidad de β -glucanos. En general, la tortilla NE-9% fue la más similar a la tortilla NT-0%.

La adición de hongos mejoró la calidad sensorial de las tortillas elaboradas con nixtamalización ecológica. A través de la diversificación de productos, aumentamos las posibilidades de consumo de *P. agaves*, y con él, una alternativa alimentaria con alta capacidad antioxidante y aceptación sensorial.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- AACC. (1983). *Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists, 8th ed., No. 44-40. AACC Inc., St. Paul, MN.* (8th ed.).
- Abdel-Aal, E. S. M., & Hucl, P. (1999). A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats. *Cereal Chemistry, 76*(3), 350–354.
<https://doi.org/10.1094/CCHEM.1999.76.3.350>
- Adebayo, E. A., Mart, D., Meneses, E., Avila-Nava, A., Castillo, I., & Bonilla, M. (2018). *Original article Comparative study of antioxidant and antibacterial properties of the edible mushrooms Pleurotus levis, P. ostreatus, P. pulmonarius and P. tuber-regium.* 1–15.
<https://doi.org/10.1111/ijfs.13712>
- Adom, K. K., & Liu, R. H. (2002). Antioxidant activity of grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50*(21), 6182–6187. <https://doi.org/10.1021/jf0205099>
- Amador-Rodríguez, K. Y., Martínez-Bustos, F., Pérez-Cabrera, L. E., Posadas-Del-Río, F. A., Chávez-Vela, N. A., Sandoval-Cardoso, M. L., & Guevara-Lara, F. (2015). Effect of huitlacoche (*Ustilago maydis* DC Corda) paste addition on functional, chemical and textural properties of tortilla chips. *Food Science and Technology, 35*(3), 452–459.
<https://doi.org/10.1590/1678-457X.6697>
- Amaya-Guerra, C. A., Alanis-Guzman, M. G., & Serna Saldívar, S. O. (2004). Effects of soybean fortification on protein quality of tortilla-based diets produced from regular and quality protein maize. *Plant Foods for Human Nutrition, 59*(2), 45–50.
<https://doi.org/10.1007/s11130-004-0030-5>
- AOAC. (2000). *No Title* (A. International (ed.); 17 th ed.).
- Aparicio-Saguilan, A., Osorio-Díaz, P., Agama-Acevedo, E., Islas-Hernández, J. J., & Bello-Perez, L. A. (2013). Tortilla added with unripe banana and cassava flours: Chemical composition and starch digestibility. *CYTA - Journal of Food, 11*(SUPPL.1), 90–95.
<https://doi.org/10.1080/19476337.2012.760653>
- Argüello-García, E., Martínez-Herrera, J., Córdova-Téllez, L., Sánchez-Sánchez, O., & Corona-Torres, T. (2017). Propiedades de textura, química y sensorial de tortillas de maíz fortificadas con harina de jatropha curcas L. no tóxica. *CYTA - Journal of Food, 15*(2), 301–306. <https://doi.org/10.1080/19476337.2016.1255915>
- Banukie N Jayasuriya, W. J. A., Wanigatunge, C. A., Fernando, G. H., Abeyunga, D. T. U., & Suresh, T. S. (2015). Hypoglycaemic activity of culinary *Pleurotus ostreatus* and *P. cystidiosus* mushrooms in healthy volunteers and Type 2 diabetic patients on diet control and the possible mechanisms of action. *Phytotherapy Research, 29*(2), 303–309.
<https://doi.org/10.1002/ptr.5255>
- Betrán, F. J., Bockholt, A. J., & Rooney, L. W. (2001). *Blue corn. In: Specialty Corns.* (A. R. Hallauer (ed.)). Iowa State University.
- Bonatti, M., Karnopp, P., Soares, H. M., & Furlan, S. A. (2004). Evaluation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* nutritional characteristics when cultivated in different lignocellulosic wastes. *Food Chemistry, 88*, 425–428.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.01.050>
- Brouillard, R., Chassaing, S., & Fougèrouse, A. (2003). Why are grape / fresh wine anthocyanins so simple and why is it that red wine color lasts so long ? *Phytochemistry, 64*, 1179–1186.
[https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(03\)00518-1](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(03)00518-1)
- Brown, L., Caligiuri, S. P. B., Brown, D., & Pierce, G. N. (2018). Clinical trials using functional

- foods provide unique challenges. *Functional Foods*, *45*, 233–238.
- Brown, L., Poudyal, H., & Panchal, S. K. (2015). Functional foods as potential therapeutic options for metabolic syndrome. *Obesity Reviews*, *16*(11), 914–941.
<https://doi.org/10.1111/obr.12313>
- Burton, K. E., Steele, F. M., Jefferies, L., Pike, O. A., & Dunn, M. L. (2008). Effect of micronutrient fortification on nutritional and other properties of nixtamal tortillas. *Cereal Chemistry*, *85*(1), 70–75. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-85-1-0070>
- Caesar, R., Fak, F., & Backhed, F. (2010). Effects of gut microbiota on obesity and atherosclerosis via modulation of inflammation and lipid metabolism. *Genes Dev*, *26*(4), 320–328.
<https://doi.org/doi:10.1111/j.1365-2796.2010.02270.x>
- Campechano Carrera, E. M., Figueroa Cárdenas, J. de D., Arámbula Villa, G., Martínez Flores, H. E., Jiménez Sandoval, S. J., & Luna Bárcenas, J. G. (2012). New ecological nixtamalisation process for tortilla production and its impact on the chemical properties of whole corn flour and wastewater effluents. *International Journal of Food Science and Technology*, *47*(3), 564–571. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02878.x>
- Carrera, D. M., & Juárez, J. R. (2016). *Ciencia, Tecnología e Innovación en el Sistema Agroalimentario de México*. (Colegio de Postgraduados-AMC-CONACYT-UPAEP-IMINAP (ed.)).
- Chaplin, M. F. (2003). Fibre and water binding. *Proceedings of the Nutrition Society*, *62*(1), 223–227. <https://doi.org/10.1079/PNS2002203>
- Chel-Guerrero, L., Parra-Pérez, J., Betancur-Ancona, D., Castellanos-Ruelas, A., & Solorza-Feria, J. (2014). Chemical, rheological and mechanical evaluation of maize dough and tortillas in blends with cassava and malanga flour. *Journal of Food Science and Technology*, *52*(7), 4387–4395. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1504-6>
- Consuelo Morales, J., & García Zepeda, R. A. (2017). Effect of Different Corn Processing Techniques in the Nutritional Composition of Nixtamalized Corn Tortillas. *Journal of Nutrition & Food Sciences*, *07*(02). <https://doi.org/10.4172/2155-9600.1000580>
- Cornejo-Villegas, M. A., Acosta-Osorio, A. A., Rojas-Molina, I., Gutiérrez-Cortéz, E., & Quiroga, M. A. (2010). Study of the physicochemical and pasting properties of instant corn flour added with calcium and fibers from nopal powder. *Journal of Food Engineering*, *96*(3), 401–409. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.08.014>
- Cortés-Gómez, A., Martín-Martínez, E. S., Martínez-Bustos, F., & Vázquez-Carrillo, G. M. (2005). Tortillas of blue maize (*Zea mays* L.) prepared by a fractionated process of nixtamalization: Analysis using response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, *66*(3), 273–281. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.03.018>
- Cuevas Montilla, E., Hillebrand, S., Antezana, A., & Winterhalter, P. (2011). Soluble and bound phenolic compounds in different Bolivian purple corn (*Zea mays* L.) cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *59*(13), 7068–7074. <https://doi.org/10.1021/jf201061x>
- de Dios Figueroa Cárdenas, J., Acero Godínez, M. G., Vasco Méndez, N. L., Lozano Guzmán, A., & Flores Acosta, L. M. (2003). Nutritional quality of nixtamal tortillas fortified with vitamins and soy proteins. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, *54*(3), 189–200. <https://doi.org/10.1080/09637480120091991>
- De Pascual-Teresa, S., Santos-Buelga, C., & Rivas-Gonzalo, J. C. (2002). LC-MS analysis of anthocyanins from purple corn cob. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *82*(9),

1003–1006. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1143>

- Del Valle, F. R. (1976). Industrial production of soy-enriched tortilla flour by lime cooking of whole raw corn-soybean mixtures. *Journal of Food Science*, *41*, 349–351.
- Du, B., & Xu, B. (2014). Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) of β -glucans from different sources with various molecular weight. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, *3*(1), 11–16.
<https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2013.12.001>
- FAO. (2002). *Food and Nutrition paper 77. Food energy - methods of analysis and conversion factors*.
- Figueroa-Cárdenas, J. D., Godínez, M. G. A., Méndez, N. L. V., Guzmán, A. L., Acosta, L. M. F., & González-Hernández, J. (2001). Fortificación y evaluación de tortillas de nixtamal. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, *51*(3), 293–302.
- Figueroa, J. D. C., Rodríguez-Chong, A., & Véles-Medina, J. J. (2011). *Proceso ecológico de Nixtamalización para la producción de harinas, masas y tortillas integrales Mexican patent*, 289, 339.
- Flores Sotelo, M. T. (2007). Colegio de postgraduados [Colegio de postgraduados, campus Puebla, México.]. In *Tortillas de maíz enriquecidas con hongos comestibles (Pleurotus ostreatus, Agaricus bisporus y Lentinula edodes), como una alternativa para mejorar la alimentación en dos comunidades del estado de Puebla*.
http://www.biblio.colpos.mx:8080/jspui/bitstream/handle/10521/256/Sanchez_Borja_M_DC_Fitosanidad_2010.pdf?sequence=1
- Foschia, M., Peressini, D., Sensidoni, A., & Stephen, C. (2013). The effects of dietary fibre addition on the quality of common cereal products. *Journal of Cereal Science*, *58*(2), 216–222. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2013.05.010>
- Giusti, M., & Wrolstad, R. (2005). Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. In *Handbook of Food Analytical Chemistry* (Vols. 2–2, pp. 19–31).
<https://doi.org/10.1002/0471709085.ch18>
- Granato, D., Barba, F. J., Bursać Kovačević, D., Lorenzo, J. M., Cruz, A. G., & Putnik, P. (2020). Functional Foods: Product Development, Technological Trends, Efficacy Testing, and Safety. *Annual Review of Food Science and Technology*, *11*, 93–118.
<https://doi.org/10.1146/annurev-food-032519-051708>
- Guevara-Arauz, J. C., Órnelas-Paz, J. de J., Rosales-Mendoza, S., Soria-Guerra, R. E., Paz-Maldonado, L. M. T., & Pimentel Gozález, D. J. (2011). Biofunctional activity of tortillas and bars enhanced with nopal. Preliminary assessment of functional effect after intake on the oxidative status in healthy volunteers. *Chemistry Central*, *5*(10), 1–10.
- Guzmán-Gerónimo, R. I., Alarcón-Zavaleta, T. M., Oliart-Ros, R. M., Meza-Alvarado, J. E., Herrera-Meza, S., & Chávez-Servia, J. L. (2017). Blue Maize Extract Improves Blood Pressure, Lipid Profiles, and Adipose Tissue in High-Sucrose Diet-Induced Metabolic Syndrome in Rats. *Journal of Medicinal Food*, *20*(2), 110–115.
<https://doi.org/10.1089/jmf.2016.0087>
- Hair, J. F., Babin, B. J., Anderson, R. E., & Black, W. C. (2018). *Multivariate Data Analysis* (Analysis-Cengage Learning (ed.); 8th ed.).
- Hernandez-Chavez, J. F., Guemes-Vera, N., Olguin-Pacheco, M., Osorio-Diaz, P., Bello-Perez, L. A., & Totosaus-Sanchez, A. (2019). Effect of lupin flour incorporation of mechanical

- properties of corn flour tortillas. *Food Science and Technology*, 39(3), 704–710.
<https://doi.org/10.1590/fst.06518>
- Hernández-Reyes, K. E., Montemayor-Mora, G., Pérez-Carrillo, E., De la Rosa-Millán, J., García-Villanueva, C., & Serna-Saldívar, S. O. (2019). Effect of soybean bagasse addition on texture, sensory properties, and protein quality of maize tortillas. *Cereal Chemistry*, 96(2), 283–291.
<https://doi.org/10.1002/ccche.10120>
- Horn, J. L. (1965). A rationale and test for the number of factors in factor analysis. *Psychometrika*, 30(2), 179–185. <https://doi.org/10.1007/BF02289447>
- Huang, H. Y., Korivi, M., Yang, H. T., Huang, C. C., Chaing, Y. Y., & Tsai, Y. C. (2014). Effect of *Pleurotus tuber-regium* polysaccharides supplementation on the progression of diabetes complications in obese-diabetic rats. *Chinese Journal of Physiology*, 57(4), 198–208.
<https://doi.org/10.4077/CJP.2014.BAC245>
- Islas-Hernández, J., Rendón-Villalobos, J. R., Agama-Acebedo, E., Tovar, J., & Bello-Pérez, L. (2007). Effect of phytate and storage conditions on the development of the ‘hard-to-cook.’ *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1243(April), 1237–1243.
<https://doi.org/10.1002/jsfa>
- Jackson, D. S. (2002). *Digital Commons @ University of Nebraska - Lincoln Enzymatic Process for Nixtamalization of Cereal Grains United States Patent Date of Patent :*
- Joon-Kwan, M., & Takayuki, S. (2009). *Antioxidant Assays for Plant and Food Components*. 57, 1655–1666.
- Juárez-Montiel, M., Ruiloba de León, S., Chávez-Camarillo, G., Hernández-Rodríguez, C., & Villanueva-Tanaca, L. (2011). Huitlacoche (corn smut), caused by the phytopathogenic fungus *Ustilago maydis*, as a functional food. *Revista Iberoamericana de Micología*, 28(2), 69–73.
<https://doi.org/10.1016/j.riam.2011.01.001>
- Kanagasabapathy, G., Kuppusamy, U. R., Abd Malek, S. N., Abdulla, M. A., Chua, K. H., & Sabaratnam, V. (2012). Glucan-rich polysaccharides from *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer prevents glucose intolerance, insulin resistance and inflammation in C57BL/6J mice fed a high-fat diet. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12.
<https://doi.org/10.1186/1472-6882-12-261>
- Kayode, R. M. O., Olakulehin, T. F., Adediji, B. S., Ahmed, O., Aliyu, T. H., & Badmos, A. H. A. (2015). Evaluation of amino acid and fatty acid profiles of commercially cultivated oyster mushroom (*Pleurotus sajor-caju*) grown on gmelina wood waste. *Nigerian Food Journal*, 1–4. <https://doi.org/10.1016/j.nifoj.2015.04.001>
- Klepcka, J., & Fornal, Ł. (2006). Ferulic acid and its position among the phenolic compounds of wheat. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46(8), 639–647.
<https://doi.org/10.1080/10408390500511821>
- Kurek, M. A., Wyrwicz, J., Piwińska, M., & Wierzbicka, A. (2015). Influence of the wheat flour extraction degree in the quality of bread made with high proportions of β -glucan. *Food Science and Technology*, 35(2), 273–278.
- Lenssen, K. G. M., Bast, A., & de Boer, A. (2018). Clarifying the health claim assessment procedure of EFSA will benefit functional food innovation. *Journal of Functional Foods*, 47(March), 386–396. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.05.047>
- Limberger-Bayer, V. M., Francisco, A. De, Chan, A., Oro, T., Ogliari, P. J., & Barreto, P. L. M. (2014). Barley β -glucans extraction and partial characterization. *Food Chemistry*, 154(1),

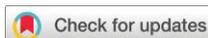
- 84–89. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.12.104>
- López-Espinoza, A., Martínez Moreno, A. G., & López-Uriarte, P. J. (2014). *México Obeso: Actualidades y perspectivas* (Issue November).
- Mariscal Moreno, R. M., Figueroa, J. D. C., Santiago-Ramos, D., Villa, G. A., Sandoval, S. J., Rayas-Duarte, P., Véles-Medina, J. J., & Martínez Flores, H. E. (2015). The effect of different nixtamalisation processes on some physicochemical properties, nutritional composition and glycemic index. *Journal of Cereal Science*, *65*, 140–146. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2015.06.016>
- Maya-Cortés, D. C., Figueroa Cárdenas, J. de D., Garnica-Romo, M. G., Cuevas-Villanueva, R. A., Cortés-Martínez, R., Véles-Medina, J. J., & Martínez-Flores, H. E. (2010). Whole-grain corn tortilla prepared using an ecological nixtamalisation process and its impact on the nutritional value. *International Journal of Food Science and Technology*, *45*(1), 23–28. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.02095.x>
- Mayo-Mayo, G., Navarrete-García, A., Maldonado-Astudillo, Y. I., Jiménez-Hernández, J., Santiago-Ramos, D., Arámbula-Villa, G., Álvarez-Fitz, P., Ramirez, M., & Salazar, R. (2020). Addition of roselle and mango peel powder in tortilla chips: a strategy for increasing their functionality. *Journal of Food Measurement and Characterization*, *14*(3), 1511–1519. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00400-9>
- Ménera-López, I., Gaytán-Martínez, M., Reyes-Vega, M. L., Morales-Sánchez, E., & Figueroa, J. D. C. (2013). Physico-chemical properties and quality assessment of corn flour processed by a continuous ohmic heating system and traditional nixtamalization. *CYTA - Journal of Food*, *11*(SUPPL.1), 8–14. <https://doi.org/10.1080/19476337.2012.762692>
- Meneses, M. E., Martínez-Carrera, D., Torres, N., Sánchez-Tapia, M., Aguilar-López, M., Morales, P., Sobal, M., Bernabé, T., Escudero, H., Granados-Portillo, O., & Tovar, A. R. (2016). Hypocholesterolemic properties and prebiotic effects of Mexican *Ganoderma lucidum* in C57BL/6 mice. *PLoS ONE*, *11*(7), 1–20. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0159631>
- Mesa-Vanegas, A. M., Zapata-Urbe, S., Arana, L. M., Zapata, I. C., Monsalve, Z., & Rojano, B. (2015). Actividad antioxidante de extractos de diferente polaridad de *Ageratum conyzoides* L. *Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, *14*(1), 1–10.
- Mora-Avilés, A., Lemus-Flores, B., Miranda-López, R., Hernández-López, D., Pons-Hernández, J., Acosta-Gallegos, J. A., & Guzmán-Maldonado, S. (2007). Effect of phytate and storage conditions on the development of the 'hard-to-cook.' *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *1243*(June 2005), 1237–1243. <https://doi.org/10.1002/jsfa>
- Mora-Rochin, S., Gutiérrez-Urbe, J. A., Serna-Saldivar, S. O., Sánchez-Peña, P., Reyes-Moreno, C., & Milán-Carrillo, J. (2010). Phenolic content and antioxidant activity of tortillas produced from pigmented maize processed by conventional nixtamalization or extrusion cooking. *Journal of Cereal Science*, *52*(3), 502–508. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2010.08.010>
- Páramo-Calderón, D. E., Aparicio-Saguilán, A., Aguirre-Cruz, A., Carrillo-Ahumada, J., Hernández-Urbe, J. P., Acevedo-Tello, S., & Torruco-Uco, J. G. (2019). Tortilla added with Moringa oleífera flour: Physicochemical, texture properties and antioxidant capacity. *Lwt*, *100*, 409–415. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.10.078>
- Pérez Herrera, A., & Meneses Álvarez, M. E. (2019). *Aportación de los ingredientes nativos de Mesoamérica en la regulación de los parámetros del Síndrome Metabólico*. (A. Pérez

- Hererra & M. E. Meneses Álvarez (eds.); Primera). Universidad Autónoma de Chiapas. <http://library1.nida.ac.th/termpaper6/sd/2554/19755.pdf>
- Platt-Lucero, L. C., Ramírez-Wong, B., Torres-Chávez, P. I., López-Cervantes, J., Sánchez-Machado, D. I., Carvajal-Millan, E., Martínez-Bustos, F., Quintero-Ramos, A., & Morales-Rosas, I. (2011). Effect of xylanase on extruded nixtamalized corn flour and tortilla: Physicochemical and rheological characteristics. *Journal of Food Process Engineering*, 36(2), 179–186. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.2011.00667.x>
- Quintanar-Guzmán, A., Jaramillo-Flores, M. E., Soloeza-Feria, J., Méndez Montealvo, M. G., & Wang, Y.-J. (2011). Rheological and thermal properties of masa as related to changes in corn protein during nixtamalization. *Journal of Cereal Science*, 53(1), 139–147. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2010.11.005>
- Rendón-Villalobos, J. R., Bello-Pérez, L. A., Agama-Acevedo, E., Islas-Hernández, J. J., Osorio-Díaz, P., & Tovar, J. (2009). Composition and characteristics of oil extracted from flaxseed-added corn tortilla. *Food Chemistry*, 117(1), 83–87. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.03.080>
- Rendón-Villalobos, R., Ortíz-Sánchez, A., Solorza-Feria, J., & Trujillo-Hernández, C. A. (2012). Formulation, physicochemical, nutritional and sensorial evaluation of corn tortillas supplemented with chía seed (*Salvia hispanica* L.). *Czech Journal of Food Sciences*, 30(2), 118–125. <https://doi.org/10.17221/393/2010-cjfs>
- Reyes-Moreno, C., Ayala-Rodríguez, A. E., Milán-Carrillo, J., Mora-Rochín, S., López-Valenzuela, J. A., Valdez-Ortiz, A., Paredes-López, O., & Gutiérrez-Dorado, R. (2013). Production of nixtamalized flour and tortillas from amarantin transgenic maize lime-cooked in a thermoplastic extruder. *Journal of Cereal Science*, 58(3), 465–471. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2013.09.008>
- Reynoso-Camacho, R., Guerrero-Villanueva, G., Figueroa, J. de D., Gallegos-Corona, M. A., Mendoza, S., Loarca-Piña, G., & Ramos-Gomez, M. (2015). Anticarcinogenic effect of corn tortilla against 1,2-dimethylhydrazine (DMH)-induced colon carcinogenesis in sprague-dawley rats. *Plant Foods for Human Nutrition*, 70(2), 146–152. <https://doi.org/10.1007/s11130-015-0471-z>
- Rodiles-López, J. O., Arriaga-Martínez, L. P., Martínez-Flores, H. E., Zamora-Vega, R., & García-Martínez, R. M. (2019). Desarrollo de una tortilla adicionada con harinas de aguacate y nopal y su efecto en la reducción de colesterol, triglicéridos y glucosa en ratas. *Biotecnia*, 21(2), 71–77. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v21i2.909>
- Rodríguez Méndez, L. I., Figueroa Cárdenas, J. de D., Ramos Gómez, M., & Méndez Lagunas, L. L. (2013). Nutraceutical properties of flour and tortillas made with an ecological nixtamalization process. *Journal of Food Science*, 78(10), 1529–1534. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12241>
- Ruiz-Gutiérrez, M. G., Quintero-Ramos, A., Meléndez-Pizarro, C. O., Talamás-Abbud, R., Barnard, J., Márquez-Meléndez, R., & Lardizábal-Gutiérrez, D. (2012). Nixtamalization in two steps with different calcium salts and the relationship with chemical, texture and thermal properties in masa and tortilla. *Journal of Food Process Engineering*, 35(5), 772–783. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.2010.00627.x>
- Salinas Moreno, Y., Hernández Martínez, V., Trejo Téllez, L. I., Ramírez Díaz, J. L., & Iñiguez Gómez, O. (2017). Composición nutricional y de compuestos bioactivos en tortillas de

- poblaciones nativas de maíz con grano azul/morado. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8(7), 1483. <https://doi.org/10.29312/remexca.v8i7.525>
- Sánchez-Madrigal, M. Á., Neder-Suárez, D., Quintero-Ramos, A., Ruiz-Gutiérrez, M. G., Meléndez-Pizarro, C. O., Piñón-Castillo, H. A., Galicia-García, T., & Ramírez-Wong, B. (2017). Physicochemical properties of frozen tortillas from nixtamalized maize flours enriched with B-glucans. *Food Science and Technology (Campinas)*, 35(3), 552–560. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.6715>
- Sánchez-Madrigal, M. Á., Quintero-Ramos, A., Martínez-Bustos, F., Meléndez-Pizarro, C. O., & Ruiz-Gutiérrez, M. G. (2014). Effect of different calcium sources on the antioxidant stability of tortilla chips from extruded and nixtamalized blue corn (*Zea mays* L.) flours . *Food Science and Technology*, 34(1), 143–149. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612014000100021>
- Sánchez-Marroquín, A., Feria-Morales, A., Maya, S., & Ramos-Moreno, V. (1987). Processing, Nutritional Quality and Sensory Evaluation of Amaranth Enriched Corn Tortilla. *Journal of Food Science*, 52(6), 1611–1614. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1987.tb05889.x>
- Santana-Gálvez, J., Pérez-Carrillo, E., Velázquez-Reyes, H. H., Cisneros-Zevallos, L., & Jacobo-Velázquez, D. A. (2016). Application of wounding stress to produce a nutraceutical-rich carrot powder ingredient and its incorporation to nixtamalized corn flour tortillas. *Journal of Functional Foods*, 27, 655–666. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.10.020>
- Santiago-Ramos, D., Figueroa-Cárdenas, J. D. D., & Véles-Medina, J. J. (2018). Viscoelastic behaviour of masa from corn flours obtained by nixtamalization with different calcium sources. *Food Chemistry*, 248, 21–28. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.12.041>
- Santos-Buelga, C., & Scalbert, A. (2017). Relationship between phenolic compounds, anthocyanins content and antioxidant activity in colored barley germplasm. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 1713. <http://www.mdpi.com/1420-3049/22/10/1713> <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29030670> <http://link.springer.com/10.1007/s00216-017-0663-5>
- Serna-Saldivar, S. O., Guajardo-Flores, S., & Viesca-Rios, R. (2004). Potential of Triticale as a Substitute for Wheat in Flour Tortilla Production. *Cereal Chemistry*, 81(2), 220–225. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.2004.81.2.220>
- Serna-Saldívar, S. O., Gutiérrez-Urbe, J. A., Mora-Rochin, S., & García-Lara, S. (2013). Potencial nutraceutico de los maíces criollos y cambios durante el procesamiento tradicional y con extrusión nutraceutical potential of native maize and changes during traditional and extrusion processing. *Fitotecnia Mexicana*, 36(1), 295–304.
- Soriano, I. C., Ofelia, M., González, B., Rojas, N. P., Cruz, E. M., & Villaseñor, H. E. (2016). *Evaluación de la calidad de tortilla de maíz adicionada con harina de avena (Avena Sativa L .) nixtamalizada * Quality assessment corn tortilla added with oatmeal (Avena sativa L .) nixtamalized Resumen Introducción*. 7, 1715–1725.
- Sosulski, F., Krygier, K., & Hogge, L. (1982). Free, esterified, and insoluble-bound phenolic acids. 3. composition of phenolic acids in cereal and potato flours. *J. Agric. Food Chem.*, 30, 337–340. <https://doi.org/https://doi.org/10.1021/jf00110a030>
- Sturion, G. L., & Oetterer, M. (1995). Composicao quimica de cogumelos comestiveis (pleurotus spp.) Originados de cultivos em diferentes substratos. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos PP - Campinas*, 15(2), 189–193.

- Suárez Fernández, R., Morales Chávez, L. A., & Gálvez Mariscal, A. (2013). Importancia De Los Maíces Nativos De México En La Dieta Nacional. Una Revisión Indispensable. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 36(SUPPL.3), 275–283.
- Treviño-Mejía, D., Luna-Vital, D. A., Gaytán-Martínez, M., Mendoza, S., & Loarca-Piña, G. (2016). Fortification of Commercial Nixtamalized Maize (*Zea mays* L.) with Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Increased the Nutritional and Nutraceutical Content of Tortillas without Modifying Sensory Properties. *Journal of Food Quality*, 39(6), 569–579. <https://doi.org/10.1111/jfq.12251>
- U.S.D.A. (1999). *Food and Nutrition Research Briefs*. <https://www.ars.usda.gov/oc/fnr/fnr499/>.
- Valderrama-Bravo, C., López-Ramírez, Y., Jiménez-Ambriz, S., Oaxaca-Luna, A., Domínguez-Pacheco, A., Hernández-Aguilar, C., & Moreno-Martínez, E. (2015). Changes in chemical, viscoelastic, and textural properties of nixtamalized dough with nejayote. *LWT - Food Science and Technology*, 61(2), 496–502. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.12.038>
- Vázquez-Carrillo, M. G., Santiago-Ramos, D., Gaytán-Martínez, M., Morales-Sánchez, E., & Guerrero-Herrera, M. de J. (2015). High oil content maize: Physical, thermal and rheological properties of grain, masa, and tortillas. *LWT - Food Science and Technology*, 60(1), 156–161. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.07.043>
- Vázquez-Durán, A., Gallegos-Soto, A., Bernal-Barragán, H., López-Pérez, M., & Méndez-Albores, A. (2014). Physicochemical, Nutritional and sensory properties of deep fat-fried fortified tortilla chips with broccoli (*Brassica oleracea* L. convar. italica Plenck) flour. *Journal of Food and Nutrition Research*, 53(4), 313–323.
- Vázquez Rodríguez, J., & Amaya Guerra, C. (2010). *Evaluación sensorial de tortillas de maíz fortificadas con harina de amaranto, frijol y nopal*. 111–117.
- Zhu, F., Du, B., & Xu, B. (2016). A critical review on production and industrial applications of beta-glucans. *Food Hydrocolloids*, 52, 275–288. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.07.003>

ANEXOS
ANEXO I. Artículo publicado en Food and Function

Cite this: *Food Funct.*, 2020, 11, 8768

Effect of *Pleurotus agaves* mushroom addition on the physicochemical and sensory properties of blue maize tortillas produced with traditional and ecological nixtamalization

D. A. García-Rojas,^a M. E. Meneses,^{b,c} D. Martínez-Carrera,^c J. D. Figueroa-Cárdenas,^d M. A. Sánchez-Medina,^e M. Bonilla-Quintero,^c B. Petlaco-Sánchez,^c G. A. Martínez-Gutiérrez^a and A. Pérez-Herrera^{a,b}

The physicochemical, nutritional and sensory properties of flours, doughs and tortillas made with traditional nixtamalization (TN) and ecological nixtamalization (EN) and enriched (9%) with the traditional maguay mushroom (*Pleurotus agaves*) were analysed. EN resulted in flours and tortillas having a greater content of bioactive compounds than that of TN flours, which represents a production process of maize tortillas containing high amounts of antioxidants. The addition of mushrooms to EN flours improved their sensory properties, whereas the addition of mushrooms to TN flours decreased them. The amount of *P. agaves* added to tortillas was equivalent to 3% enrichment with β -glucans. The edible mushroom *P. agaves*, highly appreciated in many Mexican regions, improved the nutritional and sensory quality of blue maize tortillas when added to flours prepared by EN. A new product was developed using local traditional foods of complementary nutritional value.

Received 19th April 2020,
Accepted 1st September 2020
DOI: 10.1039/d0fo01018a
rsc.li/food-function

1. Introduction

Corn (*Zea mays* L.) is the most produced and consumed cereal in Mexico.¹ To consume corn, it is typically first nixtamalized. In traditional nixtamalization (TN), corn kernels are boiled in a solution of calcium hydroxide, and after a 16-hour soak, the cooked corn, called nixtamal, is ground, thereby forming a dough. Nixtamalized corn is mainly destined for the production of tortillas, which are considered the basis of the diet of Mexicans,² with daily consumption of 1200 million kilograms. Forty percent of nixtamalized corn consumption occurs through flours.³

In recent years, interest in pigmented corn varieties has increased due to their anthocyanin and other flavonoid contents, as well as their antioxidant capacity content having beneficial effects on consumer health.⁴ Among pigmented maize

varieties, blue corn stands out due to the location of anthocyanins in the endosperm, which allows for the retention of bioactive compounds during nixtamalization.⁵ However, TN is not efficient because it implies high water consumption, solid waste production and polluting effluents. The loss of nutrients such as fat, protein, dietary fibre, and various bioactive compounds, mainly anthocyanins,⁶ has also been recorded for TN. Therefore, new alternatives, such as ecological nixtamalization (EN), have been sought. EN makes use of calcium salts as a substitute for lime in the nixtamalization process, thereby preventing the loss of the pericarp, which is rich in fibre, proteins, and lipids, in the cooking liquor. The tortillas made with this process have a cleaner dough and colour than those made with the TN process, as well as good sensory characteristic.⁷

Edible mushrooms are functional and medicinal because they contain nutrients and bioactive compounds; above all, they are rich in β -glucans, which, together with glucans, contribute up to 40% of their total weight. The beneficial effect of mushrooms on biomarkers of cardiovascular risk has been demonstrated.⁸ In addition, the consumption of β -glucans reduces the risk of diabetes and colon cancer.⁹ β -Glucans (mixed (1–3)- and (1–4)- β -D-glucans) play an important technological role in processed foods.^{10,11}

The hydroxyl groups of fibres that include β -glucans interact with water through hydrogen bonds, favouring their ability to

^aInstituto Politécnico Nacional – Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Oaxaca, Oaxaca 71230, Mexico.

E-mail: apehe@conacyt.mx; Tel: +52 1 9512433525

^bConsejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), Ciudad de México 03940, Mexico

^cCentro de Biotecnología de Hongos Comestibles, Funcionales y Medicinales, Colegio de Postgraduados (CP), Puebla 72760, Mexico

^dCentro de Investigación y de Estudios Avanzados Unidad Querétaro, Querétaro 76230, Mexico

^eTecnológico Nacional de México, Campus Oaxaca, Oaxaca 68030, Mexico

absorb or retain water^{10,12} and competing with starch for water, causing changes in the gelatinization and rheological properties of the dough and therefore affecting the machinability of the dough and the tortilla.¹⁰ For this reason, it is important to determine the appropriate concentration of β -glucans in nixtamalized cornmeal, which results in doughs and tortillas with good quality as well as rheological properties. Following current consumer trends towards healthier diets, many studies have investigated the addition of different components to fortify nixtamalized cornmeal and corn tortillas: chickpea flour, cowpea flour, flaxseed flour, triticale flour and others.^{13,14} The objective of this work was to evaluate the effect of mushroom addition *Pleurotus agaves* Denis to blue corn tortillas following two nixtamalization processes (TN and EN) on their physicochemical and sensory properties.

2. Materials and methods

2.1 Vegetable and mushroom samples

VC-42 blue corn was grown, harvested and dried at the Instituto Nacional de Investigación, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Valles Centrales, Campus, Oaxaca, Mexico. The mushroom *P. agaves* was grown in wheat straw, harvested and dried in the Colegio de Posgraduados, campus Puebla. The strain came from the Centro de Recursos Genéticos de Hongos Comestibles, Funcionales y Medicinales (CREGEN-HCFM), Colegio de Posgraduados Campus Puebla, Mexico. The strain is deposited in GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) with the following access number GU722263. The mushrooms were dehydrated to a moisture content of 10% and crushed and sieved using a 0.5 mm mesh.

For the cultivation of *P. agaves*, wheat straw as a substrate was previously moistened and placed in polypropylene bags with a 0.5 μm microfilter; the substrate was autoclaved (All American, USA) at 121 °C for 1.5 h. The bags were inoculated individually with *P. agaves* seeds, and after inoculation, they were incubated at 26.5 ± 1.5 °C; once the substrates were colonized, the units were incubated under constant conditions of indirect natural light (10–12 h), a temperature of 21 ± 4 °C, a relative humidity between 70 and 80%, and natural ventilation to promote the fruiting of *P. agaves*. Ten to fifteen replicas were made per batch. After the basidiocarps were harvested, they were cut into 3 mm wide slices and dehydrated to a moisture content of 10% at 40 °C for five days in a forced-air drying oven (SMO28-2, Shel Lab, USA). After drying, the mushrooms were crushed and sieved with a 0.5 mm mesh.

2.2 Preparation of nixtamalized cornmeal

For the preparation of the flours, two processes of nixtamalization were used: traditional and ecological. Traditional nixtamalization was performed according to Campechano Carrera.¹⁵ Briefly, the corn was boiled in a 1% $\text{Ca}(\text{OH})_2$ solution (w/v) in a 2 : 1 ratio (w/v) for 30 minutes, according to the results of the flotation index, which was calculated according to the official Mexican standard NMX-FF-034/1-SCFI (non-industrialized food

products for human consumption. Cereals. Part I: white corn for alkaline processing for corn tortillas and nixtamalized corn products. Specifications and methods test., 2002). After 16 hours, the cooking liquor was removed, and the cooked corn was washed with purified water in a 1 : 1 ratio. A stone mill (Model M100, FUMASA, CINVESTAV Querétaro, Mexico) was used to obtain the dough. Subsequently, the dough was dried at 260 °C for 4 seconds in an instant dryer. Subsequently, the dried dough was crushed in a mill (Pulvex-200, Mexico) with a hammerhead and screened using a 0.5 mm mesh. The resulting flour was stored at 4 °C until use. To obtain flour *via* ecological nixtamalization, the procedure was repeated according to Figueroa *et al.* (2011),⁷ replacing $\text{Ca}(\text{OH})_2$ with CaCl_2 .

2.3 Preparation of the doughs (formulation)

Corn flours prepared *via* TN and EN were enriched with 9% *P. agaves* mushroom. The doughs were made by mixing water and flour (enriched and unenriched) in a 1 : 2 ratio. The tortillas were formed in a manual tortilla press until a 2 mm thickness and a 120 mm diameter were obtained. A hot iron plate at 270 °C was used for cooking. The tortillas were cooked for 17 s on side one, 50 s on side two to form a thick layer, and an additional 17 s on side one to allow for the formation of an air bubble inside the tortilla. Tortillas were used immediately after processing.

2.4 Proximate analyses

Proximate analyses were performed in triplicate for the *P. agaves* mushroom, blue corn, and tortillas. To determine the moisture, ash, fat, protein and fibre contents, methods of the AOAC 2000¹⁶ were used. Moisture determination was carried out by drying at 105 °C until a constant weight was reached, while the ash content was determined by calcination of the residue at 550 °C for 8 h. The nitrogen content was calculated using the Kjeldahl technique, and protein concentrations were determined using the nitrogen factor of 6.25. The fat content was obtained by extraction with petroleum ether, and the total dietary fibre was determined by incinerating organic residues after digestion with sulfuric acid and sodium hydroxide. The nitrogen-free extract (NFE) was obtained by the difference between the sum of ashes, fats, protein and dietary fibre, and their values were subtracted from 100 on a dry basis. The total energy was obtained based on the results of carbohydrates, proteins, and fats. The conversion factors used were based on metabolizable energy and analytical methods: 4 kcal g^{-1} for carbohydrates, 4 kcal g^{-1} for protein and 9 kcal g^{-1} for fats.¹⁷

2.5 Analysis of bioactive compounds

The bioactive compound contents were determined in the raw material (mushrooms and blue corn), as well as in the nixtamalized flours and enriched and unenriched tortillas. After processing, the tortillas were cooled to room temperature inside a cotton cloth. The tortillas were ground to pass through a 1 mm mesh in a food mixer (Oster 4655, Mexico). Bioactive compounds were determined from this milled sample.

2.5.1 Content of free and bound phenolic compounds. For the extraction, 10 mL of 80% methanol was added to a 1 g sample and immersed in an ultrasonic bath for 60 min at room temperature. The mixture was centrifuged at 2500g for 10 minutes, and then the supernatant was removed. The sediment was subjected to two successive extractions in 5 mL of 80% methanol; the supernatants were mixed, filtered and brought to 20 mL. The method used by ref. 18 was used for the extraction of bound phenols. For quantification, 1 mL of 0.5% Na₂CO₃ aqueous solution (w/v) and 1 mL of Folin-Ciocalteu reagent (2 mol L⁻¹, HYCEL, Mexico) were diluted 10 times in water and added to the extracts (1 mL in triplicate). Samples were protected from light and vortexed before being left for 1 h at 25 °C. The absorbance of the samples were measured at 750 nm using a UV-visible spectrophotometer (Shimadzu UV-1800, Japan). The content of free and bound phenolic compounds was obtained by comparing the absorbance with a calibration curve ($r^2 = 0.993$) using gallic acid standards (between 0 and 150 ppm). The results were expressed in mg equivalent of gallic acid (GAE) per 100 g of sample on a dry basis.

2.5.2 Flavonoid content. For the preparation of the extracts, 500 mg of each powdered sample was weighed, and 5 mL of methanol-water (80 : 20, v/v) was added. The samples were processed in an ultrasonic bath for 30 minutes and then centrifuged at 27 200g for 15 minutes. The supernatant was separated, and the residue extracted two additional times. The supernatants were mixed and brought to a final volume of 30 mL. Then, 150 µL of 5% NaNO₂ was added to the extracts (3 mL in triplicate) and incubated for 5 minutes at room temperature. Then, 150 µL of 10% AlCl₃·6H₂O was added, and after six minutes, 1 mL of 1 mol L⁻¹ NaOH was added. The absorbance was measured at 510 nm in a UV-1800 model UV-visible spectrophotometer (Shimadzu, Japan). The absorbance was compared with a standard curve (0–150 ppm quercetin, $r^2 = 0.997$), and the results are expressed as equivalent mg of quercetin per g of dry sample.

2.5.3 Anthocyanin content. The determination of total anthocyanins was performed according to the procedure established by Abdel-Aal & Hucl 1999¹⁹ with slight variations. For extraction, 5 mL of methanol acidified with 1 mol L⁻¹ HCl was added to a 1 g sample, stirred for 30 minutes and centrifuged at 27 200g for 15 minutes. The supernatant was separated, and the sediment was subjected to two successive extractions. The supernatants were combined, and their volume was brought to 20 mL in a volumetric flask. After extracting the anthocyanins, the absorbance was measured spectrophotometrically at 535 and 700 nm using a UV-visible spectrophotometer (Shimadzu UV-1800, Japan). The total content of anthocyanins is expressed as cyanidin 3-glycoside equivalents in mg per 100 g and was calculated with the following equation:

$$\text{Total anthocyanin} = (A/\epsilon) \times (\text{Vol}/1000) \times \text{MW} \times (1/\text{WT}) \times 10^6$$

where the absorbance is $A = (A_{530} - A_{700})$, ϵ is molar absorptivity (cyanidin 3-glycoside = 25 965 cm⁻¹ M⁻¹), Vol is the total

volume of the extract, MW is the molecular weight of cyanidin 3-glycoside = 449, and WT is the total weight of the sample on a dry basis.

2.5.4 β -Glucan content. In the dried *P. agaves* mushroom sample, the content of β -glucans (link 1→3, β -glucan) was determined with the mushroom and yeast β -glucan K-YBGL test kit (Megazyme, Ireland). In tortilla samples, β -glucans (link 1→3, 1→4) were determined with the K-BGLU kit (Megazyme, Ireland). The results are expressed as a percentage of the total weight of the sample.

2.5.5 Antioxidant capacity. To determine the antioxidant capacity (expressed as µmol equivalents of Trolox per gram of sample), three methodologies were used: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging capacity, ferric reducing/antioxidant power (FRAP) and oxygen radical absorbance capacity (ORAC). The same methanolic extracts were used for the determination of flavonoids.

For the DPPH method (Sigma, Aldrich), 100 µL of each extract was taken, and 2.9 mL of DPPH solution (50 mg per 100 mL) was added. All reactions were carried out for 30 minutes at room temperature. The absorbance at 515 nm against the target (without extract) was measured on a UV-visible spectrophotometer (Shimadzu UV-1800, Japan). A standard curve ($R^2 = 0.998$) was generated with 5 concentrations of Trolox (0.133, 0.266, 0.399, 0.532, 0.665, and 0.799 µmol mL⁻¹).

Three mixtures were made for the preparation of the FRAP reagent: 300 mM sodium acetate buffer (pH 3.6)/10 mM TPTZ/20 mM ferric chloride hexahydrate in a 10 : 1 : 1 ratio. Then, 100 µL of each extract was added to 3 mL of the FRAP reagent and incubated for 30 min at 37 °C, and the absorbance at 593 nm against the target (without extract) was measured on a UV-visible spectrophotometer (Shimadzu UV-1800, Japan). The results were compared against a standard curve (0–1000 µmol Trolox L⁻¹; $r^2 = 0.998$).

For the oxygen radical absorbance capacity (ORAC), dried basidiocarps of *P. agaves*, flours and tortillas were ground to a fine powder. The analysis of basidiocarps [µmol Trolox equivalents (TE) per g] included the addition of 20 mL of acetone in water (50 : 50, v/v) as the extraction solvent for 1.0 g of powdered sample. The extract was centrifuged at 21 036g for 15 min, and the supernatant was used for analysis after appropriate dilution with buffer solution. The reagent and standard preparation were made as follows: 0.414 g of AAPH was dissolved in 10 mL of 75 mM phosphate buffer (pH 7.4) to a final concentration of 153 mM and kept in an ice bath. A stock solution (0.02 M) of Trolox standard was prepared in 50 mL of 75 mM phosphate buffer (pH 7.4). The stock solution was then diluted with the same phosphate buffer to 50, 25, 12.5 and 6.25 µM working solutions. Fluorescein (4 nM, 150 µL) was added to each reaction mixture. The fluorescence was measured in a BioTek Synergy HT plate reader (Bio Tek Instruments).

2.6 Physical properties of flours, doughs, and tortillas

2.6.1 Analysis of pasting flour profile. The pasting profile was measured with the use of an RVA-4 Rapid Visco analyser viscometer (Newport Scientific PTY Ltd, Sydney, Australia). The

moisture content was adjusted to 14% by method no. 14–15 of AACC, 1983.²⁰ The homogenization of the sample was carried in 10 s at 960 rpm; the heating time of the sample from 50 °C to 90 °C was 300 s, and a constant temperature of 90 °C was maintained for 300 s; finally, the sample was cooled to reach 50 °C over 360 s. The total time spent on each sample was 16 min, where the stirring speed remained constant at 160 rpm. Duplicate analyses were performed.

2.6.2 Tortilla texture. A TA-XT2 texture analyser (Texture Technologies Corp., USA), with accessories TA-96 and TA-90 (Texture Technologies Corp., USA), was used to determine the tensile and shear forces of the tortillas. The texture was obtained using the TA-96 accessory, while the TA-90 accessory was used to determine the shear force. Both characteristics are reported in kg-f, and triplicate tortilla samples were analysed at random from each treatment.

2.6.3 Colour determination in tortillas. For tortilla colour determination,²¹ a MiniScan XE colorimeter, model 45/0-L (Hunter Associates Laboratory, 11491 Sunset Hill Rd., Reston, Virginia, USA) was used. The total colour differences (SD) between the different time periods were calculated from the determined CIELAB values: L^* , a^* , and b^* .

2.6.4 pH measurement. AOAC (2000) method 981.12 was used to determine the pH of the cooking liquor. In addition, the pH of 10% (w/v) dispersions of each flour and crushed tortilla was also measured.

2.7 Sensory analysis and acceptability of tortillas

A total of 40 panellists who regularly consume corn tortillas participated in this study. The tortillas were heated on 240 °C steel plates and given to consumers covered with a cotton cloth. Panellists were instructed to evaluate the following in the whole tortilla: general appearance, colour, thickness, rollability, tear resistance, aroma, chewiness, and general flavour. The panellists were asked to rate these attributes on a 9-point hedonic scale (1 = dislike extremely, 2 = dislike a lot, 3 = dislike moderately, 4 = dislike slightly, 5 = do not like or dislike, 6 = like slightly, 7 = like moderately, 8 = like a lot, 9 = like extremely).

2.8 Analysis of results

Statistical analyses were performed with Minitab 17 Statistical 2010 software (Minitab, LLC, USA). All determinations were

conducted in triplicate, except for the analysis of the flour paste profile, which was performed in duplicate. The results are expressed as the mean \pm 1 standard deviation (SD). The average values obtained for the physicochemical variables, *i.e.*, the bioactive compound content and sensory and rheological properties, were compared using a unidirectional analysis of variance, and the means were compared using the Tukey test ($\alpha = 0.05$). For the proximate analyses and determination of bioactive compounds, a descriptive analysis of the mushroom and corn samples was performed. The bioactive compounds were determined in raw material, nixtamalized flours, and enriched and unenriched tortillas. In the proximate analyses of corn tortillas made with nixtamalized flour, a one-way analysis of variance was performed, and the means were compared using the Tukey test ($\alpha = 0.05$).

For the sensory evaluation and acceptability of tortillas, principal component analysis was performed,²² and parallel analysis²³ was carried out to determine the number of useful components. For both analyses, the R Core Team v. 4.0.0 (2020) program was used.

3. Results

3.1 Proximate analyses

Table 1 shows the results of proximate analyses of the raw materials used (mushroom and corn) and tortillas. The *P. agaves* mushroom had high protein, fibre and EFN contents, while the corn showed a high concentration of EFN.

The fat content increased in tortillas made with TN and EN enriched with 9% mushroom compared with that of tortillas made without mushroom addition. The protein, fibre and EFN contents showed no significant differences with mushroom enrichment. The highest caloric content was found in TN-0% and EN-9% tortillas, while the lowest caloric content was found for EN-0% tortillas.

3.2 Content of bioactive compounds

The bioactive compounds (free phenols, bound phenols, total phenols, flavonoids, anthocyanins, and β -glucans) were determined in mushrooms, VC-42 corn, flours and tortillas (Table 2). The *P. agaves* mushroom had a high content of total

Table 1 Proximal analysis of *P. agaves*, blue corn VC-42, and tortillas made with nixtamalized flours traditionally and ecologically

	Moisture (%)	Ashes (%)	Fat (%)	Proteins (%)	Dietary fiber (%)	EFN (%)	Calories (kJ per kcal per 100 g)
<i>P. agaves</i>	6.06 \pm 0.30	3.38 \pm 0.17	8.04 \pm 0.21	16.24 \pm 0.52	37.40 \pm 1.15	39.30 \pm 1.55	274.11 \pm 4.83
VC-42	10.86 \pm 1.59	0.08 \pm 0.01	5.85 \pm 0.10	9.08 \pm 0.49	4.17 \pm 0.12	80.83 \pm 0.61	412.25 \pm 0.62
Tortillas							
TN-0%	42.88 \pm 1.17a	1.76 \pm 0.15a	1.80 \pm 0.07d	11.45 \pm 0.69a	3.13 \pm 0.23a	79.21 \pm 0.72a	402.72 \pm 0.89a
TN-9%	44.39 \pm 1.80a	1.86 \pm 0.33a	2.40 \pm 0.08c	11.73 \pm 1.35a	3.28 \pm 0.28a	80.99 \pm 2.11a	390.14 \pm 2.10c
EN-0%	42.87 \pm 0.20a	1.51 \pm 0.11a	2.79 \pm 0.46b	11.28 \pm 0.84a	3.27 \pm 0.16a	81.15 \pm 0.69a	384.84 \pm 2.78d
EN-9%	41.78 \pm 0.36a	1.69 \pm 0.26a	3.50 \pm 0.15a	12.19 \pm 0.58a	3.77 \pm 0.19a	78.91 \pm 0.84a	395.66 \pm 0.62b

TN-0%: traditional nixtamalization and 0% of mushroom, TN-9%: traditional nixtamalization and 9% of mushroom. EN-0%: ecological nixtamalization and 0% of mushroom, EN-9%: ecological nixtamalization and 9% of mushroom. EFN: extract free of nitrogen. All parameters are calculated on a dry basis. \pm Standard deviation. Different letters in the same column are significantly different ($p < 0.05$).

Table 2 Concentration of free phenols, bound phenols, total phenols, flavonoids, anthocyanins, β -glucans and antioxidant capacity in corn, fungus, flour and tortillas

	Phenols (mg GAE per 100 g d.b.)			Flavonoids (μ g QE per g d.b.)	Anthocyanins (mg cya-3-glu per 100 g d.b.)	β -Glucans (% d.b.)
	Free	Bound	Total			
VC-42	262.07 \pm 5.49	540.08 \pm 87.90	802.16 \pm 89.89	4.16 \pm 0.13	314.81 \pm 4.53	1.22 \pm 0.20
<i>P. agaves</i>	513.17 \pm 25.24	129.52 \pm 25.65	642.69 \pm 13.69	16.38 \pm 0.42	—	25.30 \pm 0.56
Flour						
TN-0%	240.45 \pm 8.910a	675.50 \pm 20.72b	915.96 \pm 26.34b	3.40 \pm 0.20d	82.33 \pm 0.67c	1.22 \pm 0.02b
TN-9%	261.90 \pm 17.80a	713.02 \pm 41.57b	974.90 \pm 26.34b	5.73 \pm 0.25b	73.83 \pm 1.51d	3.32 \pm 0.01a
EN-0%	241.98 \pm 12.95a	939.15 \pm 6.47a	1181.16 \pm 18.42a	5.01 \pm 0.82c	218.86 \pm 0.41a	0.97 \pm 0.02c
EN-9%	258.98 \pm 5.42a	981.11 \pm 23.44a	1241.09 \pm 18.42a	7.56 \pm 0.08a	161.24 \pm 0.26b	3.18 \pm 0.01b
Tortilla						
TN-0%	308.76 \pm 15.36a	457.71 \pm 32.24b	766.68 \pm 46.48c	2.56 \pm 0.10d	52.30 \pm 0.27c	2.17 \pm 0.08c
TN-9%	285.10 \pm 18.40a	433.71 \pm 31.29b	719.06 \pm 21.10c	3.01 \pm 0.15c	25.70 \pm 0.16d	5.80 \pm 0.25a
EN-0%	306.55 \pm 13.82a	688.45 \pm 12.26a	994.98 \pm 16.15a	4.09 \pm 0.19a	126.32 \pm 0.28a	2.02 \pm 0.02d
EN-9%	273.60 \pm 27.70a	604.74 \pm 72.83a	878.28 \pm 48.20b	3.56 \pm 0.12b	97.38 \pm 0.31b	5.36 \pm 0.09b

TN-0%: traditional nixtamalization and 0% of mushroom, TN-9%: traditional nixtamalization and 9% of mushroom. EN-0%: ecological nixtamalization and 0% of mushroom, EN-9%: ecological nixtamalization and 9% of mushroom. All parameters are calculated on a dry basis. \pm Standard deviation. Different letters in the same column are significantly different ($p < 0.05$).

and bound phenols, while VC-42 corn showed high concentrations of free phenols. The contents of free phenols in enriched and unenriched flours do not show significant differences. The bound and total phenol contents were higher in the EN-0% and EN-9% *P. agaves* products (flour and tortillas) than in those of the TN-0% and TN-9% groups ($p < 0.05$). After making the tortillas, an increase in free phenols and a reduction in bound and total phenols were observed in EN-0%, EN-9%, TN-0% and TN-9%.

For flavonoid content, a lower concentration of flavonoids was found in TN-0% and EN-0% flours than in TN-9% and EN-9% flours ($p < 0.05$). However, in tortillas, the flavonoid content decreased compared with that in the flours but was higher in EN-9% tortillas than in TN tortillas regardless of mushroom enrichment ($p < 0.05$).

The anthocyanin content was higher in EN-0% and EN-9% flours and tortillas than in those of the TN-0% and TN-9% groups ($p < 0.05$). The content of β -glucans increased after enriching the flours with the *P. agaves* mushroom, the content of which continued to increase after the cooking process to produce tortillas ($p < 0.05$).

The antioxidant capacity is shown in Table 3. After enriching the flours with 9% mushroom, an increase in the antioxidant capacity was observed when measured with the DPPH and FRAP techniques ($p < 0.05$), while with the ORAC technique, a decrease was identified ($p < 0.05$). After tortilla cooking, a significant increase in antioxidant capacity was observed with the ORAC technique ($p < 0.05$). No significant differences were found in relation to the type of nixtamalization.

3.3 Physical properties of flour and tortillas

The rheological properties of flours, doughs and tortillas are presented in Table 4. Higher filling temperatures were observed for mushroom-free treatments than for those enriched with mushrooms. The products enriched with mush-

Table 3 Antioxidant capacity, μ mol equivalent trolox per g on a dry basis

Sample	ORAC (μ mol ET per g d.b.)	DPPH (μ mol ET per g d.b.)	FRAP (μ mol ET per g d.b.)
VC-42	59.34 \pm 21.45	34.31 \pm 0.75	20.49 \pm 0.09
<i>P. agaves</i>	172.78 \pm 20.61	39.25 \pm 0.37	22.11 \pm 0.05
Flour			
TN-0%	223.05 \pm 53.71 a	14.72 \pm 0.19 a	20.49 \pm 0.09 c
TN-9%	129.40 \pm 33.04 b	15.20 \pm 0.04 a	22.11 \pm 0.05 b
EN-0%	193.32 \pm 49.14 a	12.82 \pm 0.23 b	17.01 \pm 0.32 d
EN-9%	153.66 \pm 37.99 b	15.07 \pm 0.22 a	23.31 \pm 0.19 a
Tortilla			
TN-0%	306.21 \pm 86.11 b	21.50 \pm 0.30 a	26.02 \pm 1.01 a
TN-9%	495.08 \pm 43.75 a	20.98 \pm 0.97 a	25.18 \pm 0.95 ab
EN-0%	347.39 \pm 64.68 b	20.69 \pm 0.30 a	25.91 \pm 0.45 b
EN-9%	491.79 \pm 76.18 a	20.18 \pm 0.16 a	23.75 \pm 0.19 b

TN-0%: traditional nixtamalization and 0% of mushroom, TN-9%: traditional nixtamalization and 9% of mushroom. EN-0%: ecological nixtamalization and 0% of mushroom, EN-9%: ecological nixtamalization and 9% of mushroom. All parameters are calculated on a dry basis. \pm Standard deviation. Different letters in the same column are significantly different ($p < 0.05$).

rooms presented lower setback values ($p < 0.05$) than those of the non-enriched products. The texture of the dough and tortillas enriched with *P. agaves* is shown in Table 4. The adhesiveness and cohesion were higher in products containing mushrooms than in those not containing mushrooms. Increases in adhesiveness and cohesion are associated with the viscosity properties produced by β -glucans, as previously reported by Sánchez-Madriral *et al.* (Sánchez-Madriral *et al.*, 2017),¹³ and *P. agaves* mushrooms have a β -glucans content of 33.33%.

3.4 Sensory evaluation and acceptability of tortillas

A sensory evaluation of tortillas produced *via* TN and EN and enriched or unenriched with *P. agaves* was conducted, and the

Table 4 Physical and chemical properties of flour and tortillas

	Sample			
	NT-0%	TN-9%	NE-0%	NE-9%
Flours				
PT (°C)	70.55 ± 1.76	69.25 ± 0.49	70.96 ± 1.26	68.45 ± 0.07
V_{\max} (Cp)	3059 ± 76.37	3421 ± 2.08	2460 ± 19.09	2668 ± 9.89
V_{\min} (Cp)	1704 ± 133.64	1835 ± 121.62	1590 ± 8.48	1509 ± 45.96
SB (Cp)	2919 ± 28.99	2241 ± 72.12	2037 ± 60.10	1492 ± 60.81
Adhesiveness ^a (g)	141.41 ± 2.22	151.12 ± 10.39	117.83 ± 5.64	155.11 ± 3.58
Cohesiveness ^a (g)	-18.50 ± 6.30	-27.17 ± 1.97	-13.19 ± 0.25	-17.19 ± 3.10
pH	7.67 ± 0.33	7.16 ± 0.16	5.65 ± 0.08	5.74 ± 0.23
Tortillas				
Cutting force (g)	764.22 ± 7.03	706.44 ± 21.51	855.21 ± 43.04	966.23 ± 30.50
Tensile strength (g)	146.72 ± 6.39	177.18 ± 4.68	175.51 ± 13.86	142.12 ± 8.07
ΔE Total	55.25 ± 0.95	54.90 ± 0.31	51.66 ± 0.23	52.47 ± 0.47
L^*	45.24 ± 0.47 a	45.99 ± 0.24 a	42.83 ± 0.32 b	42.49 ± 0.95 b
a^*	1.59 ± 0.21 b	1.94 ± 0.15 a	-1.28 ± 0.05 c	-2.62 ± 0.13 d
b^*	5.63 ± 0.22 a	2.21 ± 0.09 b	5.42 ± 0.11 a	2.53 ± 0.04 b
pH	8.02 ± 0.24	7.45 ± 0.18	6.35 ± 0.15	6.03 ± 0.05

TN-0%: traditional nixtamalization and 0% of mushroom, TN-9%: traditional nixtamalization and 9% of mushroom. EN-0%: ecological nixtamalization and 0% of mushroom, EN-9%: ecological nixtamalization and 9% of mushroom. PT: pasting temperature, V_{\max} : maximum viscosity, V_{\min} : minimum viscosity, SB: Seat Back, ΔE total color difference. ^a Adhesion y cohesion was measured in dough. ± Standard deviation. Different letters in the same row are significantly different ($p < 0.05$).

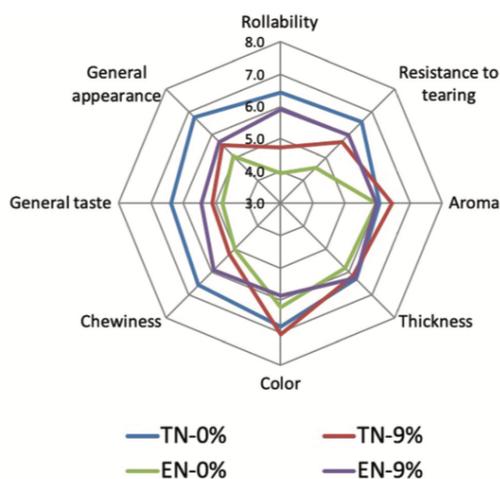


Fig. 1 Sensory properties evaluated in blue corn tortillas and blue corn tortillas enriched with fungus *P. agaves*. TN-0%: tortillas made with traditional nixtamalization; TN-9%: tortillas made with traditional nixtamalization enriched with 9% *P. agaves*; EN-0%: tortillas made with ecological nixtamalization; EN-9%: tortillas made with organic nixtamalization enriched with 9% *P. agaves*.

scores assigned by the panellists are shown in Fig. 1. The TN-0% and EN-9% tortillas were more accepted for resistance to tearing, rollability, general appearance, general flavour and chewiness. For aroma and colour, the TN-9% mushroom tortilla was most accepted, while the thickness of the EN-0% tortilla was the least accepted.

Table 5 Component matrix for determining the relatedness of the most important variables in each component

	PC1	PC2
Rollability	-0.412	0.136
Resistance to tearing	-0.413	-0.098
Aroma	0.025	-0.703
Thickness	-0.381	-0.096
Color	-0.103	-0.659
Chewiness	-0.410	0.170
General taste	-0.410	0.052
General appearance	-0.407	-0.048

The parallel analysis indicated that two main components (93.18%) are plenty to explain the variation in the data (PC1 = 69.51% and PC2 = 23.67). The most important variables (Table 5) in each component are illustrated in bold.

The acceptance of tortillas NT0% and NE9% was related to the characteristics of rollability, resistance to tearing, thickness, chewiness, general taste, and general appearance. These features obtained the highest values in the perception of the interviewees, and in the values of the first principal component. While NT9% were more associated with aroma and color. These two variables obtained the highest values in the second principal component. On the other hand, NE0% tortillas were the least accepted as they showed less affinity with the measured parameters (Fig. 2).

4. Discussion of results

4.1 Proximate analyses

This is the first study that shows the nutritional analysis of the *P. agaves* mushroom, which was grown in wheat straw. The

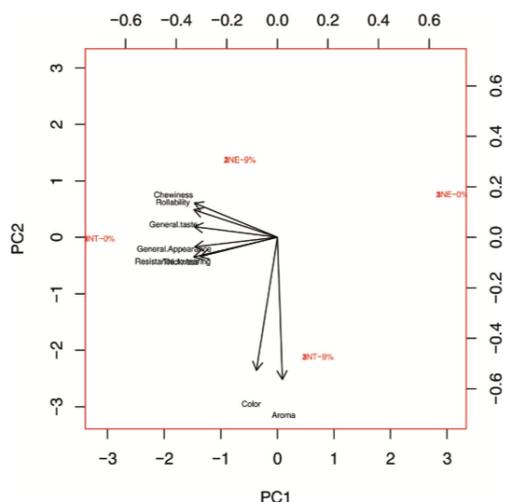


Fig. 2 Sensory properties evaluated TN-0%: tortillas made with traditional nixtamalization; TN-9%: tortillas made with traditional nixtamalization enriched with 9% *P. agaves*; EN-0%: tortillas made with ecological nixtamalization; EN-9%: tortillas made with organic nixtamalization enriched with 9% *P. agaves*.

protein content in *P. agaves* is higher than that reported for other *Pleurotus* mushrooms; for example, Bonatti *et al.* (2004) reported 13.1% protein and 9.86% total fibre contents for *Pleurotus ostreatus* grown in rice straw,²⁴ while we found corresponding contents of 16.24% and 37.4%, respectively, for *P. agaves*. According to Sturion and Oetterer (1995), the nutritional value of mushrooms may be affected by the crop substrate, which could help explain some nutrient variations in different types of mushrooms.²⁵ The EFN content was lower than that reported for *Pleurotus ostreatus*. The differences between nutrient contents on a 100 g base made the caloric content of the *Pleurotus ostreatus* mushroom 9% higher than that of *P. agaves*. These results suggest that *P. agaves* is a mushroom with a low caloric content, in addition to being rich in fibre and protein compared to other *Pleurotus* species.

Just as the substrate affects the nutritional content of mushrooms, the nutritional content of corn is also affected by the region and climate where it was planted, as well as other factors such as genotype, genetic background and percentage composition of the endosperm and pericarp.²⁶ The VC-42 corn used in our study has similar protein values as those reported by Maya-Cortés *et al.* (2010) (8.9%), while in this study, a 9.08% protein content was found. However, VC-42 corn has 237% more protein than that reported by Campechano Carrera *et al.* (2012), who registered a 2.9% protein content for white corn. The fat content is also higher in VC-42 corn, at 5.85%, than that reported in the aforementioned studies (values between 0.3% and 4.66%).^{6,15}

During nixtamalization, the protein content of corn increases; however, due to the high pH in TN, the pericarp of the corn is hydrolysed, and with it, some nutrients, including vitamins, fats, proteins, dietary fibre and some minerals, are lost.^{6,15} In contrast, EN, with a lower pH than that of TN, reduces losses of the pericarp and thereby retains nutrients such as fibre and protein.¹⁵ Our study confirms what was reported by Maya-Cortés *et al.* (2010), who did not find a significant difference between the protein content of tortillas made using both methods of nixtamalization.⁶ However, an amount of protein between 11.28% and 12.19% contained in tortillas made with VC-42 corn subjected to TN and EN and enriched or not enriched with the *P. agaves* mushroom was higher than those reported by Guevara-Arauz *et al.* (2011), who enriched corn tortillas with nopal and found a protein content of 3.27%.²⁷

Fat loss was greater in TN than in EN ($p < 0.05$); however, *P. agaves* contributed fat to the tortillas. Kayode *et al.* (2015) reported that the main fatty acids in *Pleurotus* mushrooms are monounsaturated fatty acids such as oleic acid, accounting for 40% of total fats, while linoleic acid accounts for almost 30% of the total polyunsaturated fats of *Pleurotus* mushrooms. The fibre content increased with *P. agaves* addition to cornmeal, and similar trends were found by Sánchez-Madrigal *et al.* (2017) by adding different concentrations of β -glucans.¹³ Dietary fibre is beneficial for health maintenance and prevention of consumer diseases, contributes to physiological attenuation, prevents constipation and facilitates good colon health.²¹

4.2 Content of bioactive compounds

The content of bioactive compounds in corn is also affected by the same factors that affect the content of macronutrients in corn grain, mainly the relative relationship of endosperm and pericarp, genotype, genetic background and the degree of maturity,^{26,28} and these contents directly affect the antioxidant capacity.

Phenolic acids and flavonoids make up the phenols in corn kernels and can be in free form or linked to biomolecules such as proteins and structural carbohydrates.²⁹ Most of the phenolic acids in corn are found in bound form, mainly in cell wall components, while flavonoids are mainly in free or soluble form; in anthocyanins, which are also flavonoids, the linked portion is relatively low.³⁰ The anatomical conformation of the corn grain explains the content of free phenols. It has been reported that the germ contains the highest proportion of free phenols, while the pericarp is rich in bound phenols.²⁸ The TN process promotes the loss of the pericarp and part of the germ, which causes the leaching of phenolic compounds. For the content of total flour phenols with respect to raw corn, Rodríguez Méndez *et al.* (2013) reported an increase in total phenols in white genotypes and a reduction in yellow, red and black phenotypes.²⁸ In our study, we found increases of 14% for TN-0% and 47% for EN-0% in the flour, while enriched flours increased the amount of total phenols due to the contribution of the *P. agaves* mushrooms; compared with raw corn,

the increase in total phenols for enriched treatments was 21% for TN-9% and 54% for EN-9%. EN, with a lower pH than that of TN, decreased the release of phenolic acids to the cooking liquor. Campechano Carrera *et al.* (2012) explained that the ester bonds between ferulic acid and arabinoxylans, which contribute to crosslinking, weaken the pericarp and the cell wall, hydrolyse the ester bond and release ferulic acid, which is the main phenolic acid in corn.¹⁵ The increase in phenolic compounds could be because they are commonly linked by ester bonds to hemicellulose chains, mainly with arabin residues, and they also polymerize with lignin through the ether bond.³¹ Some structures that were part of the linked phenols became free phenols. After nixtamalization, we found a loss of phenols. With respect to the flours, the tortillas showed losses in phenol content of 16% for TN-0%, 26% for TN-9%, 15% for EN-0% and 29% for EN-9%. This indicated that corn phenols were more stable than *P. agaves* mushroom phenols during the cooking process of tortillas. Despite the phenol losses during this stage, the phenol content of tortillas made with EN exceeded the phenol content of raw corn.

Comparison of the flours of both treatments with raw corn revealed a loss of anthocyanins of 73% for TN-0% and 30% for EN-0%. After enriching them with the *P. agaves* mushroom, the percentages of losses with respect to raw corn increased by 76% for TN-9% and 48% for EN-9%. Nixtamalization reduces anthocyanin levels because during this process, the corn is exposed to heat during cooking and pH changes due to the use of Ca(OH)₂ in NT and CaCl₂ in EN.²⁶ The most predominant form of anthocyanins is the flavylium ion. In an alkaline medium, the flavylium ion is susceptible to the nucleophilic attack of water, producing a pseudo-base carbinol.³⁰ For this reason, EN flours with a pH of 5.65 conserved more anthocyanins than TN flours with a pH of 7.67. This confirms what was reported by Rodríguez Méndez *et al.* (2013),²⁸ where EN flour retained more anthocyanins than TN flour. After being enriched with the *P. agaves* mushroom, the pH of the flours decreased: the TN-9% flour had a pH of 7.16 and the EN-9% flour had a pH of 5.74; with this reduction, the amount of total anthocyanins was also reduced; these decreases could be due to the content of non-acylated anthocyanins, which are considered relatively unstable under changes in pH and temperature.³² A comparison of the anthocyanin content of tortillas with that of raw corn showed a loss of 83% for TN-0%, 91% for TN-9%, 59% for EN-0% and 69% for EN-9%. The loss of anthocyanins in tortillas was due to heat treatment. It has been suggested that the rapid destruction of anthocyanins at high temperatures could be due to the hydrolysis of the 3-glycoside structure that has a protective effect on unstable anthocyanins. Another suggestion is the reactions that produce a brown colour in foods containing anthocyanins; these reactions are based on the production of chalcones from the hydrolysis of the pyrilic ring.³³ EN-0% and EN-9% tortillas had higher contents ($p < 0.05$) of anthocyanins than those of the TN-0% and -9% tortillas.

The consumption of dietary fibre is associated with the prevention of several chronic cardiometabolic diseases, including

type 2 diabetes and cardiovascular diseases. For this reason, global dietary guidelines tend to include high fibre intake in their recommendations. The recommended daily intake is 25 to 38 g of fibre.¹⁷ Among the sources of dietary fibre, cereal β -glucans are one of the most effective types of fibre to prevent type 2 diabetes and cardiovascular disease. The β -glucans contained in 100 grams of VC-42 corn cover 4.88% of the daily fibre requirements, while the β -glucans contained in 100 grams of *P. agaves* cover 100% of the daily requirements.

It has been shown that the β -glucans contained in functional and medicinal mushroom species have the ability to lower plasma cholesterol levels in *in vivo* models due to different mechanisms of action, such as lowering the lipid absorption level of the intestine and, as a consequence, increasing the excretion of cholesterol and bile acids in the faeces.⁸ Another mechanism of the antihyperlipidaemic action of mushroom β -glucans lies in the prebiotic effect they exert when consumed by increasing the species of *Lactobacilli*, which have the ability to reduce blood cholesterol levels, possibly as a result of the action of the bacterial enzyme bile salt hydrolase, which can affect the reabsorption of cholesterol in the intestine.³⁴

There is growing interest in the determination of antioxidant capacity because antioxidants are important for maintaining human health.³⁵ Corn and mushrooms are a natural source of antioxidants due to their contents of flavonoids, phenols, and other bioactive compounds. While blue corn is of interest due to its anthocyanin content, mushrooms are of interest due to their antioxidant content and β -glucan content, which are known for their functional and medicinal properties.⁸

Several methods have been used frequently to determine antioxidant capacity in vegetables and their food products for clinical studies. These trials include those developed in this study: the oxygen radical absorption capacity (ORAC) using a beta-phycoerythrin oxidizer as the substrate, the ferric reducing antioxidant power (FRAP) and the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging capacity, based on the premise that a donor hydrogen is an antioxidant; this last test uses the DPPH radical that changes from purple to yellow in the presence of antioxidants, which is very useful in preliminary studies.³⁶

Different results have been shown between test methods and laboratories. Some reports indicate that there is no correlation between the antioxidant activity determined by the FRAP and ORAC techniques. However, it has been reported that the ORAC test is more relevant than the other two techniques because it uses a biologically relevant radical source;³⁷ the ORAC test has also been widely used in many recent plant studies since it has the advantage of combining the percentage of inhibition and the duration of inhibition of free radicals in a single amount.³⁷ Increases in the antioxidant capacity from flours to cooked tortillas could be attributed to the bioavailability of active β -glucans,³⁸ as well as to other bioactive compounds such as phenolic compounds, which exhibit increased bioavailability after cooking.

According to the U.S. Department of Agriculture, the consumption of foods with high ORAC values “may help to slow the processes associated with ageing in both body and brain”, and it recommends the consumption of different foods, among them, prunes with an ORAC values of 5770 μmol equivalents of Trolox per 100 g wet base and foods with lower ORAC values such as eggplants, with an ORAC value of 390 μmol ET per 100 g wet basis.³⁹ In this study, relatively high ORAC values were observed; on a wet basis, the tortillas had the following antioxidant capacities in μmol ET per 100 g: 17 490 for TN-0%, 27 530 for TN-9%, 19 848 for EN-0% and 28 634 for TN-9%.

4.3 Physical properties of flour and tortillas

The pericarp and aleurone from corn, which mainly contains hemicellulose, cellulose, and proteins, are retained during different parts of the process when EN is used.¹⁵ A lower degree of starch gelatinization and a higher insoluble fibre content than those occurring during TN lead to a less elastic and viscous dough.⁴⁰ The dough is considered a network of solubilized starch polymers with uncooked and swollen starch granules, cell fragments, proteins and dispersed lipids.⁴¹ The lower values of pasting temperature for the enriched doughs initiated the gelatinization of starches at a relatively low temperature; the lower values for setback with mushroom enrichment than without mushroom enrichment suggested greater conservation of their sensory properties during storage. The traditional nixtamalization process produces a dough with appropriate cohesiveness and adhesiveness. A dough with low adhesivity has relatively high cohesiveness values. Ruiz Gutierrez suggested that relatively high absorption of calcium by the grains during nixtamalization could be the cause of high cohesiveness and low adhesiveness values.⁴² However, these changes may also be related to the addition of *P. agaves*; increases in the values of adhesiveness and cohesion are associated with the viscosity properties produced by β -glucans, as reported by.^{11,43}

4.4 Sensory evaluation and acceptability of tortillas

The panellists found differences between the tortillas they consume frequently (TN-0%) and those of all other treatment groups. This could suggest that frequent consumers can detect changes in nixtamalization and enrichment with *P. agaves*. The TN-0% tortillas, which obtained the highest values of a^* (+red, -green) and b^* (+yellow, -blue), and the TN-9% tortillas, which obtained the lowest values of a^* and b^* , were the most accepted, while the least accepted tortillas had intermediate values of the aforementioned parameters. Additionally, the TN-0% and TN-9% tortillas obtained the highest values in luminosity. The percentage of anthocyanin retention that was explained in the previous sections could help explain these changes in colour. Acylated anthocyanins retain more colour at high pH values than other anthocyanins and show resistance to other factors that are present during tortilla making, such as heat and light.⁴⁴ Additionally, the pH

changes when the *P. agaves* mushroom was added could explain the colour changes.

The addition of mushroom was hardly noticeable to consumers in terms of the aroma, while for the tear resistance, the most accepted tortillas were those in the TN-0% and EN-9% groups, and the least accepted tortillas were those in the TN-9% and EN-0% groups; similar trends were found for the rollability, overall appearance and chewiness attributes; this trend was also found for the torsional stress presented in Table 4. The EN-0% tortillas, being the frequently consumed tortillas by all panellists, showed greater acceptance in terms of rollability, tear resistance, aroma, thickness, colour, chewiness, and general appearance than the other tortillas. In contrast, the TN-9% tortillas compared to the TN-0% tortillas had reduced acceptability in terms of rollability, chewiness, overall taste, and overall appearance, while the aroma and colour attributes improved, suggesting that the addition of *P. agaves* mushrooms to the cornmeal for the preparation of tortillas improved the quality of their colour and aroma. The EN-0% tortillas obtained the lowest score of the sensory properties evaluated among all the treatments; when the *P. agaves* mushrooms were added, the acceptability increased; the acceptability of the EN-9% tortillas most closely approached the that of those traditionally consumed by the Mexican population (TN-0%).

4.5 Potential application of the new product

Different types of tortillas are a popular food in all social levels of Mexico and other Latin American countries. Blue maize tortillas containing the traditional maguery mushroom (9% dw) increased the nutritional and functional properties, particularly the contents of proteins, dietary fibre and β -glucans and the antioxidant capacity, of the new product, (Table 6). The production cost of this improvement increased by only 62%. The potential application of this process is high, considering that maguery mushrooms can be produced on a large or small scale.⁴⁵ In rural areas, blue maize tortillas enriched with the traditional maguery mushroom can be used for household consumption and/or for commercialization in popular markets to generate additional income. In urban areas, this product represents a value-added product whose commercial production is economically feasible, considering the health benefits described herein.

Table 6 Increase of nutritional and functional properties of blue maize tortillas by adding the traditional maguery mushroom (*P. agaves*), including the influence on the production cost. Maize tortillas were elaborated through traditional (TN) and ecological (EN) nixtamalization

Tortillas	Proportion of increase (%)				Production cost
	Proteins	Dietary fiber	β -Glucans	ORAC	
TN-9%	+0.28	+0.15	+3.63	+61.68	62
EN-9%	+0.91	+0.5	+3.34	+41.57	62

Table 7 Nutritional contribution of a portion of tortilla equivalent to 44 g

Nutrient	CT	TN-0%	TN-9%	EN-0%	EN-9%
Fat (g t ⁻¹)	1.25	0.43	0.59	0.70	0.90
Proteins (g t ⁻¹)	2.51	2.88	2.86	2.84	3.12
Dietary fiber (g t ⁻¹)	2.77	0.79	0.80	0.82	0.97
EFN (g t ⁻¹)	19.6	19.91	19.83	20.40	20.20
Calories/t	95.9	94.99	96.04	99.25	101.36
Total phenols (mg GAE t ⁻¹)	NR	192.66	105.51	150.08	134.98
Flavonoids (µg QE t ⁻¹)	NR	0.64	0.74	1.03	0.91
Anthocyanins (mg cya-3-glu t ⁻¹)	NR	13.15	6.29	31.76	24.95
β-Glucans (g t ⁻¹)	NR	0.95	2.55	0.89	2.36
ORAC (µmol ET t ⁻¹)	NR	3534.49	5334.08	3841.06	5541.25

t: tortilla; CT: commercial tortilla; NR: not reported.

A commercial tortilla with a weight of 44 g (approximate weight of one tortilla and equivalent to a portion of cereal in the Mexican diet) according to a USDA report³⁹ provides approximately the same amount of calories as any of the four tortillas presented in this article (Table 7). However, the protein content in the novel tortillas produced in this study was approximately two times that in a conventional tortilla. This increased protein content is important, especially if the consumption of these tortillas occurs in vulnerable populations. Regarding the content of bioactive compounds, commercial tortillas do not report their content; however, the consumption of 1 g of phenols per day is recommended, in addition to 2.5 mg of anthocyanins for each kg of body weight,⁴⁶ and to obtain the beneficial effects of β-glucans, the consumption of 1 g per person is recommended.⁹ In this sense, the consumption of a tortilla enriched with 9% *P. agaves* mushrooms exceeds the recommended amount of β-glucans.

5. Conclusions

This is the first study to analyse the nutritional properties of the *P. agaves* mushroom. It was shown that tortillas enriched with *P. agaves* have a greatly increased antioxidant capacity. However, the contents of compounds such as anthocyanins and flavonoids were reduced due to the high temperature applied during nixtamalization and the cooking of tortillas. The use of ecological nixtamalization conserved more bioactive compounds, as well as protein and fat, than those conserved during TN. The mushroom added to the tortillas increased the amount of β-glucans. In general, the EN-9% tortilla was the most similar to the TN-0% tortilla. The addition of mushrooms improved the sensory quality of the tortillas made with ecological nixtamalization. Through the diversification of products, we increase the possibilities of consumption of *P. agaves*, and with it, a food alternative with high antioxidant capacity and sensory acceptance.

Author contributions

D. A. García-Rojas: Conception and design of the project. Development of specific techniques (physicochemical, nutraceu-

cal, rheological, and sensory determinations), data acquisition, data analysis and interpretation. M. E. Meneses: Design of the project. Development of specific techniques (nutraceutical determinations). Data analysis and interpretation. D. Martínez-Carrera: Planting and harvesting the mushroom. Discussion of the results and important intellectual observations. J. D. Figueroa-Cárdenas: Development of specific techniques, acquisition of data (flour making and rheological determinations). Discussion of the results and important intellectual observations. M. A. Sánchez-Medina: Development of specific techniques, acquisition of data (physicochemical determinations). M. Bonilla: Planting and harvesting the mushroom. B. Petlalcalco: Planting and harvesting the mushroom. G. A. Martínez-Gutiérrez: Discussion of the results and important intellectual observations. A. Pérez-Herrera: Conception and design of the project. Data analysis and interpretation. Discussion of the results and important intellectual observations.

Conflicts of interest

None of the authors has any conflict of interests that could affect the performance of the work or the interpretation of the data.

Acknowledgements

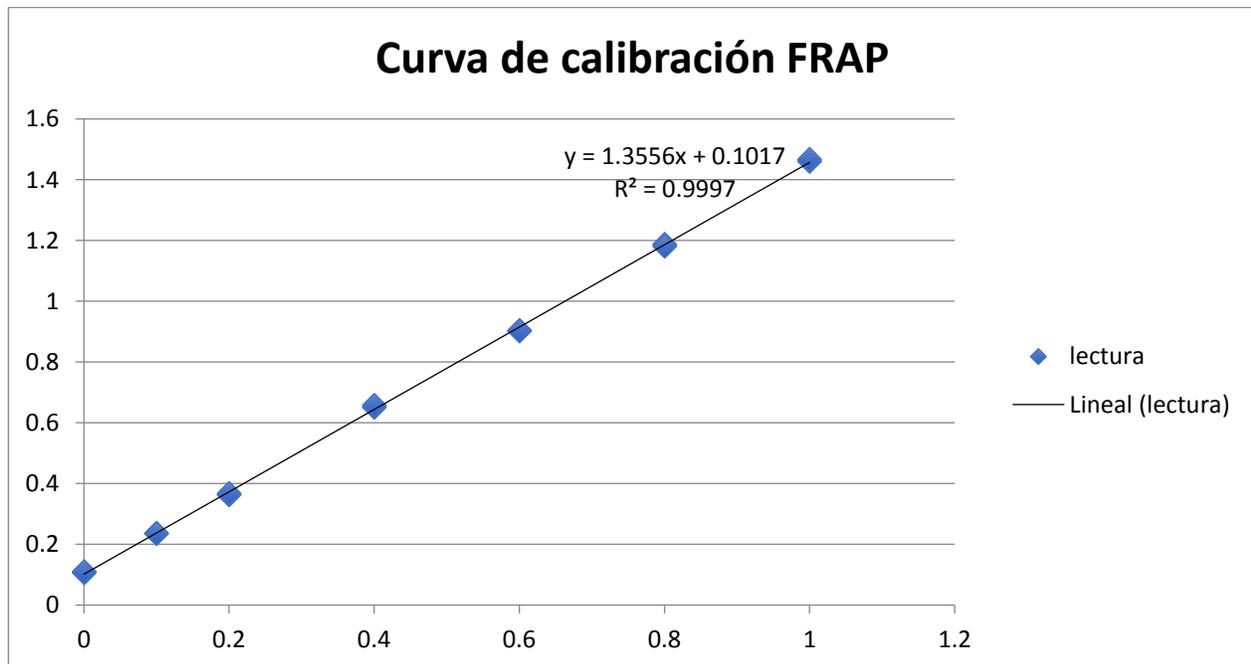
The authors are thankful to the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) for financial support to Mr García (305456), as well as by the Project "Catedras Patrimoniales CONACYT"; reference number 2014. The authors also acknowledge the technical help of Juan Veles, Verónica Flores and N. Fernández.

Notes and references

- 1 M. G. Vázquez-Carrillo, D. Santiago-Ramos, M. Gaytán-Martínez, E. Morales-Sánchez and M. de J. Guerrero-Herrera, High oil content maize: Physical, thermal and rheological properties of grain, masa, and tortillas, *LWT-Food Sci. Technol.*, 2015, **60**, 156–161.

ANEXO II. Curva de calibración para FRAP

Concentración.	Lectura	prom
0	0.108	0.108
0	0.106	
0	0.11	
0.1	0.237	0.236
0.1	0.235	
0.1	0.236	
0.2	0.364	0.365
0.2	0.363	
0.2	0.368	
0.4	0.651	0.654
0.4	0.653	
0.4	0.658	
0.6	0.902	0.903
0.6	0.904	
0.6	0.903	
0.8	1.186	1.185
0.8	1.188	
0.8	1.181	
1	1.46	1.463
1	1.461	
1	1.468	



ANEXO III Curva de calibración para DPPH

concentración.	lectura	prom
0	1.188	1.19433333
0	1.197	
0	1.198	
0.133	1.115	1.10166667
0.133	1.089	
0.133	1.101	
0.266	1.003	0.993
0.266	0.982	
0.266	0.994	
0.399	0.899	0.89833333
0.399	0.894	
0.399	0.902	
0.532	0.825	0.82266667
0.532	0.823	
0.532	0.82	
0.665	0.635	0.63333333
0.665	0.63	
0.665	0.635	
0.799	0.578	0.57966667
0.799	0.58	
0.799	0.581	

