



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS**  
**MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

Bioaccesibilidad y biodisponibilidad *in vitro* de  
compuestos antioxidantes y anti-inflamatorios  
liberados por la simulación gastrointestinal de harinas  
y concentrados proteicos de germinados de garbanzo  
desi negro y verde biofortificado con Selenio.

## **TESIS**

Que presenta

**IBQ. ANAHI MARTINEZ ROMERO**

Para obtener el Grado de

**MAESTRA EN CIENCIA  
Y  
TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

Directores

**Dr. Jorge Milán Carrillo**  
**Dra. Ada Keila Milán Noris**



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

## UAS-Dirección General de Bibliotecas

### Repositorio Institucional Buelna

#### Restricciones de uso

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

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

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-No Comercial Compartir Igual, 4.0 Internacional



## **Presentación**

El siguiente trabajo titulado “Bioaccesibilidad y biodisponibilidad *in vitro* de compuestos antioxidantes y anti-inflamatorios liberados por la simulación gastrointestinal de harinas y concentrados proteicos de germinados de garbanzo desi negro y verde biofortificado con Selenio” se desarrolló en el laboratorio de alimentos nutracéuticos (Lab 18), perteneciente al Programa de Posgrado Integral en Biotecnología de la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas de la Universidad Autónoma de Sinaloa y en el Centro de Biotecnología del Tecnológico de Monterrey campus Monterrey. Fungiendo como directores de tesis la Dra. Ada Keila Milán Noris y Dr. Jorge Milán Carrillo. Las Dra. Daniela Guardado, Dra. Marilena Antunes Ricardo y Dra. Edith Cuevas Rodríguez fungieron como asesores académicos. La alumna Anahi Martínez Romero recibió como apoyo la Beca Nacional para Estudios de Posgrado del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT). El proyecto recibió financiamiento del Programa de Fomento y Apoyo a Proyectos de Investigación (PROFAPI) 2022/PRO\_ A7\_027.

## **Agradecimientos**

Agradezco a la Universidad Autónoma de Sinaloa, a la Facultad de Ciencias Químico Biológicas, al programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología de Alimentos y al Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey por la experiencia y oportunidades que me han brindado para enriquecer y desarrollarme tanto personal como profesionalmente. También extendo mi gratitud al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el recurso y apoyo económico otorgado.

Expreso mis más sinceros agradecimientos a Dios, mi familia y amigos, por las bendiciones recibidas, brindarme lo necesario para culminar esta investigación y continuar con mi preparación académica. Han sido fundamentales para mi crecimiento personal, les estaré agradecida por siempre.

Me siento muy afortunada por tener la oportunidad de expresar agradecimiento a mis directores de tesis, el Dr. Jorge Milán Carrillo y la Dra. Ada Keila Milán Noris por la invaluable orientación, generosidad de tiempo, conocimientos compartidos, amabilidad, apoyo constante y la confianza que han depositado en mi a lo largo de este trayecto. Su creencia en mis capacidades y su estímulo para alcanzar mi máximo potencial han sido fundamentales en mi preparación académica. Desempeñaron un papel extraordinario como mentores, trabajar a su lado es un honor y un privilegio que atesoro.

Por último, pero no menos importante, agradezco a las Dras. Daniela Guardado Félix, Edith Cuevas Rodríguez, Marilena Antunes Ricardo, Erika Ortega Hernández y Eslim Sandoval Sicairos por su guía, evaluación, disposición y apoyo a lo largo de este proceso. Gracias por su contribución a mi crecimiento académico. Son excepcionales.

Con cariño y aprecio, Anahí.

## ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS .....	v
ÍNDICE DE CUADROS .....	vi
I. RESUMEN.....	8
ABSTRACT .....	9
II. INTRODUCCIÓN.....	10
III. REVISIÓN LITERARIA .....	13
A. GARBANZO .....	13
1. Generalidades .....	13
2. Composición nutricional .....	14
3. Efecto de procesamiento sobre calidad nutricional y nutracéutica .....	18
4. Germinación-selenización.....	19
5. Efecto a la salud .....	22
6. Alimentos producidos con garbanzo .....	22
B. AISLADOS Y CONCENTRADOS PROTEICOS.....	26
1. Usos y aplicaciones .....	27
C. SELENIO.....	28
1. Generalidades .....	28
2. Importancia en nutrición humana.....	29
3. Deficiencia y toxicidad.....	30
D. SIMULACIÓN DE DIGESTION GASTROINTESTINAL .....	31

1.	Digestión <i>in vitro</i> .....	32
2.	Bioaccesibilidad, biodisponibilidad y bioactividad péptidos e isoflavonas.	34
IV.	JUSTIFICACIÓN.....	37
V.	HIPOTESIS .....	38
VI.	OBJETIVOS.....	39
A.	OBJETIVO GENERAL.....	39
B.	OBJETIVOS ESPECIFICOS .....	39
VII.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	40
A.	MATERIA PRIMA.....	40
B.	PROCESAMIENTO DEL GARBANZO.....	40
1.	Germinación con selenio.....	40
2.	Obtención de Aislado Proteico.....	40
C.	PROPIEDADES FISICOQUIMICAS .....	41
1.	Análisis Proximal .....	41
2.	Determinación de selenio .....	41
3.	pH.....	42
4.	Actividad de agua.....	42
5.	Color.....	42
D.	PROPIEDADES TECNOFUNCIONALES .....	43
1.	Índices de absorción en agua/aceite y solubilidad en agua .....	43

E.	EVALUACIÓN NUTRACÉUTICA .....	43
1.	Simulación de digestión gastrointestinal INFOGEST .....	43
2.	Índices de bioaccesibilidad y recuperación de compuestos bioactivos.....	44
3.	Ultrafiltración .....	45
4.	Perfil de proteína (SDS-PAGE) .....	45
5.	Preparación de extractos para evaluación biológica .....	46
6.	Contenido de compuestos fenólicos totales .....	46
7.	Contenido de proteína soluble y péptidos .....	47
8.	Cuantificación de isoflavonas .....	47
9.	Permeabilidad celular Caco-2 .....	48
10.	Ensayo de viabilidad celular RAW 264.7 .....	49
11.	Actividad antiinflamatoria.....	50
12.	Actividad antioxidante celular .....	50
F.	ANALISIS ESTADISTICO .....	51
VIII.	Resultados y discusiones .....	52
A.	Propiedades fisicoquímicas.....	52
1.	Contenido proteico .....	52
2.	Contenido y acumulación de selenio.....	54
3.	Actividad de agua.....	56
4.	pH.....	56

5.	Diferencia de color .....	58
B.	Propiedades tecnofuncionales.....	58
1.	Índice de solubilidad en agua .....	60
2.	Índice de absorción de agua y aceite.....	60
C.	Evaluación nutracéutica .....	63
1.	Perfil de proteínas.....	63
2.	Contenido de fenólicos totales .....	65
3.	Cuantificación de isoflavonas .....	67
4.	Proteína soluble.....	70
5.	Proteína soluble y péptidos de fracciones peptídicas (10 kDa) insolubles ..	74
6.	Permeabilidad Caco-2 .....	77
7.	Actividad antioxidante y antiinflamatoria celular de digeridos solubles y permeados	79
8.	Actividad antioxidante y antiinflamatoria celular de digeridos insolubles ..	83
IX.	CONCLUSIÓN .....	85
X.	BIBLIOGRAFIA .....	87
	ANEXOS .....	107

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
1	Perfil de proteínas de harinas y concentrados de proteínas de garbanzo desi germinado-selenizados.	64
2	Permeabilidad de formononetina y biocanina-A (%) en harinas y concentrados proteicos de garbanzo desi germinado-selenizado	78

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro</b>		<b>Página</b>
1	Efectos benéficos de los nutraceuticos en el garbanzo.	23
2	Contenido y rendimiento de proteína en harinas y concentrados de proteínas de garbanzo desi verde y negro germinado- selenizado.	53
3	Contenido y acumulación de selenio en harinas y concentrados de proteínas de garbanzo desi verde y negro germinado- selenizado.	55
4	Caracterización fisicoquímica de harinas y concentrados proteicos de garbanzo desi verde y negro germinado-selenizado.	57
5	Propiedades tecnofuncionales de harinas y concentrados proteicos de garbanzo desi verde y negro germinado-selenizado.	61
6	Contenido de fenólicos totales en harinas y concentrados proteicos de garbanzo desi verde y negro germinado-selenizado.	66
7	Cuantificación de isoflavonas de harinas y concentrados proteicos de garbanzo germinado desi verde y negro germinado-selenizado.	69
8	Contenido de proteína soluble en harinas y concentrados proteicos de garbanzo desi verde y negro germinado-selenizado.	73
9	Contenido de proteína soluble y péptidos de fracciones (<10kDa) peptídicas insolubles de harinas y concentrados proteicos de garbanzo desi verde y negro germinado-selenizado.	75
10	Evaluación de la actividad antioxidante y antiinflamatoria celular de digeridos solubles y permeados.	81

11	Evaluación de la actividad antioxidante y antiinflamatoria celular de digeridos de digeridos insolubles.	84
----	--	----

## I. RESUMEN

El objetivo fue evaluar el efecto de la germinación-selenización, concentración de proteína y simulación de digestión gastrointestinal (SDG) en harinas y concentrados proteicos de garbanzo desi verde y negro sobre características fisicoquímicas, tecnofuncionales, la bioaccesibilidad y biodisponibilidad *in vitro* de compuestos antioxidantes y anti-inflamatorios. El garbanzo se germinó en industria durante 48h ( $24\pm 2$  °C/ 80%HR) con 0 y 50 mgNa<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>/L. Las proteínas se purificaron por precipitación isoelectrica. Después de la SDG se obtuvieron digeridos solubles e insolubles. La biodisponibilidad *in vitro* y actividad antioxidante (AAC) se determinó en células Caco-2; y la actividad anti-inflamatoria (AAI) en macrófagos RAW264.7. Las harinas y concentrados proteicos tuvieron 22% y 88-97% de proteína, respectivamente. El contenido de selenio se acumuló de 29-34% por el proceso de germinación-selenización y de 55-74% por la concentración de proteína. La solubilidad fue mayor en las harinas (20-26%) comparado con los concentrados proteicos (4.9-5.3%). La SDG libero los bioactivos en garbanzo, con recuperación de 564-944% en fenólicos-totales (CFT), 395-731% en proteína soluble (PS) y 156-672% en isoflavonas totales (IFT). El índice de bioaccesibilidad en las harinas fue 55-67% (CFT), 47-59% (PS) y 98-99% (IFT), mientras que en los concentrados fue de 47-49% (CFT), 34-46% (PS) y 9-19% (IFT). En la biodisponibilidad *in vitro*, la permeabilidad de formononetina fue de 71-91% y de biocanina-A de 69-93%, siendo menor en las muestras selenizadas. La AAC en digeridos absorbibles (solubles) fue de 89-93% (harinas) y 85-93% (concentrados). Mientras AAI fue de 74-87% en harinas y 69-76% en concentrados. La actividad remanente del digerido permeado fue de 62-99% para AAC y 56-77% para AAI. El digerido no-absorbible (insolubles) presentó buena AAC (88-98%) y AAI (86-89%). A pesar de que el efecto de la selenización no fue el esperado, los resultados muestran el gran potencial nutracéutico de los ingredientes de garbanzo desi procesado.

**Palabras clave:** Garbanzo, Selenio, Germinación, Bioaccesibilidad, isoflavonas

## ABSTRACT

The aim was to evaluate the effect of germination-selenization, protein concentration and simulated gastrointestinal digestion (SGD) in flour and protein concentrates from (green/black) desi chickpea on physicochemical, techno-functional, bioaccessibility and *in vitro* bioavailability characteristics of antioxidant and anti-inflammatory compounds. Chickpea was germinated in industry 48h (24±2 °C/ 80%RH) with 0 and 50 mgNa<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>/L. Proteins were recovered by isoelectric precipitation. After SGD 2 digests (absorbable and non-absorbable) were attained. The *in vitro* bioavailability and antioxidant activity (AAC) were determined in Caco-2 cells. While anti-inflammatory activity (AAI) in RAW264.7 macrophages. Flours and protein concentrates had 22% and 88-97% of protein, respectively. The germination-selenization caused the selenium accumulation of 29-34% and protein concentration of 55-74%. Solubility was higher in flours (20-26%) than concentrates (4.9-5.3%). SGD released chickpea bioactives with a recovery of 56-94% in phenolics (TPC), 39-73% in soluble protein (SP) and 15-67% in total isoflavones (TIF). The bioaccessibility index in flours was 55-67% (TPC), 47-59% (SP) and 98-99% (TIF) and in concentrates was 47-49% (TPC), 34-46% (SP) and 9-19% (TIF). In the *in vitro* bioavailability, formononetin permeability was of 71-91% and biochanin-A of 69-93%, lowest values found in selenized samples. AAC in absorbable digest (soluble) was 89-93% (flours) and 85-93% (concentrates). While AAI was of 74-87% in flours and 69-76% in concentrates. The remanent activity of permeable digest was of 62-99% (AAC) and 56-77% (AAI). The non-absorbable digest (non-soluble) showed a good AAC (88-98%) and AAI (86-89%). Although the selenization effect was not as expected, the results showed a terrific nutraceutical potential of the ingredients of processed chickpea.

**Keywords:** Chickpea, Selenium, germination, bioaccessibility, isoflavones.

## II. INTRODUCCIÓN

El garbanzo (*Cicer arietinum* L.) es una legumbre consumida a nivel mundial, que representa una buena fuente de proteína, así como de grasa, fibra y otros carbohidratos (Grasso y col., 2022). México es el octavo productor mundial de garbanzos (*Cicer arietinum* L.) (FAOSTAT, 2021), donde Sinaloa ocupa el primer lugar en todo el territorio nacional, con una aportación de 128,883.69 mil ton (SIAP, 2022). Por otra parte, existen dos tipos de granos de garbanzo desi (nativo de la India) de testa gruesa y pigmentada (café, rojo, negro o verde) y kabuli (Nativo del Mediterráneo) de testa delgada y color blanco o crema (Chavan y col., 1987; Jukanti y col., 2012).

Durante los últimos años, diferentes cultivares de garbanzo desi pigmentado (negro, café, verde y rojo) se han adaptado a las tierras agrícolas mexicanas ubicadas en el noroeste del país. El garbanzo desi pigmentado, como otras semillas pigmentadas, tienen mayor contenido de fitoquímicos (compuestos fenólicos,  $\beta$ -glucanos, almidón resistente) con mayor capacidad antioxidante (ORAC, ABTS, DPPH and FRAP) y calidad proteica comparado con semillas no pigmentadas (Heiras-Palazuelos y col., 2013; Milán-Noris y col., 2019; Quintero-Soto y col., 2018; Tiznado y col., 2013). Infortunadamente, el garbanzo pigmentado se utiliza principalmente para la alimentación de animales, debido a las dificultades de su procesamiento como el alto contenido de fibra (Summo y col., 2019). Por otra parte, el procesamiento (cocción, extrusión, germinación) mejora el contenido de fitoquímicos en el garbanzo pigmentado (Milán Noris, 2017; Tiznado y col., 2013) En particular el proceso de germinación mejora su calidad nutricional y nutracéutica (Pérez-Ramírez y col., 2023). Este proceso puede incrementar 4 veces el contenido total de isoflavonas (Lee y col., 2007), también aumenta el

contenido de fenólicos, proteína cruda, solubilidad de proteínas, actividad antioxidante (AOX) y contenido GABA (Ferreira y col., 2019).

El selenio (Se) es un mineral esencial para la nutrición de humanos y animales (Hossain y col., 2021; Prasad y col., 2022). Esta molécula actúa como cofactor en las selenoenzimas como glutatión peroxidasa y tiorredoxina reductasa, y otras enzimas en el organismo encargadas de reducir las especies reactivas de oxígeno y mantener el balance redox (Zhang y col., 2020). Aunque consumir dosis supranutricionales (200  $\mu\text{g}/\text{día}$ ) reduce el riesgo de cáncer (Kiremidjian-Schumacher y col., 2001), la cantidad diaria recomendada es de 40 a 70  $\mu\text{g}/\text{día}$  (Bjørklund y col., 2022). Con el fin de aumentar la ingesta diaria de selenio, se ha estudiado el proceso de germinación en hortalizas y leguminosas en presencia de selenio (Guardado-Félix y col., 2017). Los niveles de selenio aumentan (115 veces) al germinar garbanzos con 2 mg/100 g de selenio presente en comparación con el control. Además de incrementar su capacidad antioxidante y contenido de isoflavonas (Guardado-Félix y col., 2017). Además, se ha observado que la suplementación con brotes de garbanzo enriquecidos con selenio posee propiedades quimiopreventivas al promover la apoptosis y al inhibir la oxidación lipídica a través de la acción de la glutatión peroxidasa (Guardado-Félix y col., 2019). Según algunos estudios, el selenio se acumula en las proteínas del garbanzo, principalmente en la fracción de glutelina, en forma de selenio-metionina (Serrano-Sandoval y col., 2019; Zhang y col., 2012).

El garbanzo se considera una buena fuente de proteína por su cantidad y biodisponibilidad (Kaur y col., 2021), a pesar de ser deficiente en amino ácidos azufrados (Raza y col., 2019). Las proteínas de garbanzo exhiben buenas propiedades funcionales (Goertzen y col., 2021; Ramani y col., 2021). Estas propiedades están fuertemente

relacionadas con el perfil proteínico (composición de aminoácidos y estructura). También el procesamiento del garbanzo y el método de extracción de proteína juegan un papel importante en estos parámetros (Grasso y col., 2022). Dependiendo de las propiedades funcionales de los aislados proteicos se pueden hacer recomendaciones para el potencial uso de estos en el desarrollo de alimentos funcionales (Grasso y col., 2022). Se ha reportado que la germinación en combinación con la concentración de proteína mejora muchos parámetros tecnofuncionales para ampliar el uso de estos ingredientes (Ghavidel y col., 2006, 2007; Grasso y col., 2022). Esto último, aunado a que la biofortificación con selenio durante la germinación podría aumentar su potencial antioxidante, por lo que los concentrados/aislados de garbanzo desi germinado-selenizado resultan un interesante ingrediente funcional para su caracterización. Por lo anteriormente descrito, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la germinación-selenización, concentración de proteína y simulación de digestión gastrointestinal en harinas y concentrados proteicos de garbanzo desi verde y negro sobre características fisicoquímicas, tecnofuncionales y la bioaccesibilidad y biodisponibilidad *in vitro* de compuestos antioxidantes y anti-inflamatorios.

### III. REVISIÓN LITERARIA

#### A. GARBANZO

##### 1. Generalidades

La familia *Fabaceae* cuenta con aproximadamente 18, 000 especies y 643 géneros. El garbanzo se encuentra dentro de la familia *Fabaceae*, género *Cicer* del cual sólo la especie *Cicer arietinum* L presenta importancia agronómica y económica (Kaur y col., 2021). El “International Crops Research Institute for the Semi Arid Tropic” (ICRISAT) informó en 2023 la recolección de 20,993 líneas de germoplasma de los cuales han logrado caracterizar 20,764 accesiones de garbanzos en Patancheru, India, siendo este país el principal contribuyente a este banco.

El garbanzo (*Cicer arietinum* L.) es la tercera leguminosa en importancia sobre la base de producción mundial de grano, después del frijol y chícharo. Además, es considerada como una leguminosa importante en países en desarrollo, ya que estos países contribuyen con más del 90% de la producción mundial de garbanzo (11,910,000 millones de ton). La India contribuye el 75% de la producción mundial. Otros importantes países productores a nivel mundial de esta leguminosa son Australia (876 mil ton), Etiopía (478 mil ton) Turquía (475 mil ton) y México (171 mil ton) (FAOSTAT, 2021).

En México, el grano de garbanzo se siembra principalmente en los estados de Sinaloa, Michoacán, Sonora y Guanajuato. Su producción promedio en los últimos 10 años fue de 194,804 mil ton (SIAP, 2022). La variedad de garbanzos desi se cultivan en la sección centro-oeste del país, mientras que las variedades kabuli se cultivan mediante riego en el noroeste seco (Knights y col., 2016). A nivel nacional, Sinaloa es el líder en la producción de garbanzo, tanto en su producción como en su calidad. Sinaloa aporta el 69% de la producción de

garbanzo blanco para exportación de la zona noroeste de México, con un promedio de 128,884 mil ton y una productividad media estatal de 1.65 ton/ha (SIAP, 2022).

Los granos de garbanzo difieren entre sí en color, tamaño y grosor de la testa. De acuerdo con el cultivo, su forma puede ser redonda, semiredonda, arrugada, semiarrugada y exalbuminosa (Salunkhe y col., 1989). Hay dos tipos de garbanzo: Kabuli (originario de la región del Mediterráneo y el Medio Oriente) de testa delgada y color blanco o crema Desi (originario de la India) que tienen testa gruesa y pigmentada (marrón, amarillo, naranja, negro o verde) (Jukanti y col., 2012; Salunkhe y col., 1989). El "pico" del garbanzo que se extiende por encima del embrión siempre está presente en la semilla a pesar de sus diferentes apariencias (Knights y col., 2016).

Las semillas kabuli (100-750 mg de peso) suelen ser más grandes que las semillas Desi (80-350 mg de peso) (Knights y col., 2016). La testa y los cotiledones son las dos partes principales del grano; la testa constituye el 3–16.4% peso del grano seco, mientras que los cotiledones constituyen el 82.9–84%. El grano tiene una capa externa que contiene las estructuras hilio, micropilo y rafe (Knights y col., 2016).

## **2. Composición nutricional**

Los garbanzos son una excelente fuente nutricional, con un contenido de carbohidratos que representa el 60-65%, principalmente en forma de almidón. La proteína (21-23%), proporciona un equilibrio adecuado de aminoácidos, aunque carece de Met y Cys. La biodisponibilidad y digestibilidad de la proteína de garbanzo oscilan entre el 48–89%. En cuanto a los lípidos, presentes en cantidades de 4-10%, se componen principalmente de ácidos insaturados como linoleico y oleico. Además, los garbanzos contienen vitaminas del complejo

B y diversos micronutrientes como Fe, Zn, Ca, Mg, K, Cu y P (Juárez-Chairez y col., 2020; Kaur y col., 2021; Knights y col., 2016; Oomah y col., 2011; Rachwa-Rosiak y col., 2015).

#### **a. Proteínas y calidad nutricional**

El contenido de proteína en garbanzo crudo entero (base seca) varía de 12.4% a 30.6%. Las fracciones de proteínas de reserva más importantes son las globulinas, las cuales representan aproximadamente un 56.6% de la proteína total. Las glutelinas se encuentran con 18.1%, las albúminas 12% y las prolaminas solamente un 2.8% (Chang y col., 2012; Singh y col., 1981). La calidad de una proteína se estima comparando su composición de aminoácidos con una proteína estándar de referencia (FAO, 1991). El perfil de aminoácidos esenciales y el valor químico de las proteínas de garbanzo; donde los aminoácidos azufrados (metionina y cisteína) son el aminoácido limitante. Para el garbanzo los siguientes valores han sido reportados de valor biológico, BV (52.0-85.0), relación de eficiencia proteica, PER (1.2-2.64), digestibilidad verdadera, TPD (76.0-92.8) y utilización neta de proteína, NPU (87.0-92.0) (Salunkhe y Kadam, 1989). Las puntuaciones de aminoácidos corregidas por digestibilidad de proteínas (PDCAAS) para la variedad de garbanzo desi oscilan entre 0.61 a 0.82 (Milán-Noris y col., 2019).

#### **b. Carbohidratos**

En el garbanzo más del 50% de su peso corresponde a los carbohidratos; este contiene monosacáridos (ribosa, glucosa, galactosa and fructosa), disacáridos (sacarosa y maltosa) y oligosacáridos (estaquiosa, ciceritol, rafinosa y verbascosa). La cantidad de estas fracciones varía entre los genotipos Desi y Kabuli. Los genotipos Kabuli suelen tener más azúcares solubles comparado con el tipo Desi (Jukanti y col., 2012). Las leguminosas contienen cantidades altas de oligosacáridos, al compararse con otros granos. Los oligosacáridos no son

adsorbidos o hidrolizados por el tracto digestivo, pero son fermentados por las bacterias del colon generando gases o flatulencias. Los  $\alpha$ -galactosidos son los más abundantes carbohidratos después de la sacarosa, y en garbanzo corresponden a más de un 62% del contenido de azúcar total (mono, di y oligosacáridos). Los dos grupos presentes en el garbanzo son: a) la familia de la rafinosa, como rafinosa (trisacárido), estaquiosa (tetrasacárido) y verbascosa (pentasacárido); y b) ciclitol galactosilo, incluye al ciceritol. El garbanzo contiene 1.56 g/100g de  $\alpha$ -galactosidos (Jukanti y col., 2012).

El almidón es la principal fuente de carbono en leguminosas, formado por 2 polímeros amilosa y amilopectina, en la cual los residuos de glucosa son ligados por enlaces  $\alpha$  (1-4) para formar moléculas lineales y es ramificado por enlaces  $\alpha$  (1-6). Las cadenas laterales de amilopectina están empaquetadas en diferentes formas en la lamela de los gránulos de almidón; "Tipo A" en cereales, "tipo B" (tubérculos) y "tipo C" en leguminosas. El polimorfismo "C" es considerado un intermedio entre el "A" y "B" referente a la densidad de empaquetamiento y estructura (Jukanti y col., 2012; Sun y col., 2015). El contenido de almidón en garbanzo varía de 41 a 50% (Jukanti y col., 2012), en garbanzo desi contiene de 35 a 46 g/100g b.s. (Milán-Noris y col., 2019). El almidón es considerado como completamente digerible; pero puede contener cantidades considerables de almidón resistente (AR) dependiendo de la naturaleza del almidón y del procesamiento del grano. La digestibilidad del almidón y AR es influenciada por varios factores como la accesibilidad de las enzimas, la estructura de los gránulos de almidón, entre otras (Rebello y col., 2014). Dentro del almidón total contenido en el garbanzo, 35% es considerado AR y el resto almidón digerible (Jukanti y col., 2012). La digestibilidad del almidón en leguminosas es más baja que el del almidón de cereales. La velocidad a la cual el almidón de leguminosas es digerido es 45% más lento que

en cereales (Jukanti y col., 2012; Rebello y col., 2014). El garbanzo desi cocido contiene de 25 a 37% (del total de almidón) de AR (Milán-Noris y col., 2019).

### **c. Lípidos**

El contenido de lípidos totales en garbanzo varía de 2.7 a 6.48% (bs). El garbanzo está compuesto de cerca de 66% ácidos grasos polinsaturados, 19% ácidos grasos monoinsaturados y 15% ácidos grasos saturados (Jukanti y col., 2012). Los principales son el oleico (33%) y linoléico (49%). Dentro de los ácidos grasos saturados el más importante es el palmítico el cual representa 10% de los lípidos totales (Ryan y col., 2007).

### **d. Vitaminas y minerales**

El garbanzo es una buena fuente de ácido fólico y tocoferoles. También contiene cantidades modestas de riboflavina, ácido pantoténico y piridoxina. Además, 100 gramos de garbanzo contienen 5 mg de hierro, 4.1 mg de zinc, 138 mg de magnesio y 160 mg de calcio. También, se ha reportado el contenido de 8.2 µg/100 g de selenio (Jukanti y col., 2012).

### **e. Factores anti nutricionales**

Las leguminosas presentan una serie de compuestos que influyen negativamente en su valor nutritivo, y que se conocen como factores anti nutricionales (Jukanti y col., 2012). Algunos de estos componentes indeseables son inhibidores enzimáticos, ácido fítico, oligosacáridos, lectinas, saponinas y taninos. Los factores anti nutricionales pueden inhibir la actividad enzimática de tripsina y quimotripsina, formar complejos con los iones de los minerales, dar sabor astringente o amargo, o producir gases indeseables durante fermentación en el colon (Muzquiz y col., 2012). Recientemente algunos de estos compuestos también se le atribuyen efectos benéficos a la salud, de acuerdo con su naturaleza pueden actuar como

prebióticos, hipocolesterolemiantes, antitromboticos, anticancerigenicos, antioxidantes, hipoglucemiantes, y diuréticos (Elizalde y col., 2009; Rochfort y col., 2007).

Algunos de los factores antinutricionales son inactivados o destruidos durante procesos cotidianos en la preparación de alimentos y/o la combinación de otros métodos sencillos como la cocción, el escaldado, el tostado, la extrusión, la germinación, el remojo y la fermentación; produciendo adicionalmente un aumento en la digestibilidad y mejoramiento de las propiedades organolépticas de las semillas tratadas (Elizalde y col., 2009; Mathew y col., 2022; Muzquiz y col., 2012; Rochfort y col., 2007).

#### **f. Nutraceuticos**

El garbanzo se utiliza por su potencial como nutraceutico y prebiótico además de sus ventajas nutricionales (Mathew y col., 2022). Los nutraceuticos son compuestos o ingredientes alimentarios que tienen efectos fisiológicos específicos. El concepto nutraceutico se definió originalmente como "un alimento o partes de un alimento que proporcionan beneficios médicos o de salud, incluida la prevención y/o el tratamiento de enfermedades" (Flores-Silva y col., 2015). El garbanzo es una fuente rica de algunos compuestos nutraceuticos que ayudan a reducir el riesgo de enfermedades crónico-degenerativas (hipertensión, diabetes, cáncer, obesidad) (Mathew y col., 2022). Entre los cuales se encuentran fitoesteroles, compuestos fenólicos, saponinas, péptidos bioactivos, entre otros (Rachwa-Rosiak y col., 2015).

### **3. Efecto de procesamiento sobre calidad nutricional y nutraceutica**

El procesamiento generalmente mejora el perfil nutricional de las leguminosas incrementando la digestibilidad *in vitro* de proteínas y carbohidratos cerca de un 40% y 98%. Además de reducir el contenido de factores anti nutricionales (Muzquiz y col., 2012). Entre las principales formas de procesamiento del garbanzo se encuentran: descascarillado (Valdez-

González y col., 2018), remojo (Alsaman y col., 2020), tostado (Dida Bulbula y col., 2018; Mesfin y col., 2021), cocimiento (Shi y col., 2018), extrusión (Yadav y col., 2019), germinación (Dida Bulbula y col., 2018; Mesfin y col., 2021) y fermentación (Dida Bulbula y col., 2018). Durante el remojo y la germinación de semillas se conduce a la difusión de los anti nutrientes solubles en agua y la hidrólisis de los anti nutrientes debido a la activación o síntesis de novo de enzimas (Haileslasie y col., 2016).

La mayoría de los factores anti nutricionales, como inhibidores de proteasas y lectinas, son termolábiles, por lo que el cocimiento puede llegar a eliminarlos (Rochfort y col., 2007). Por otra parte, los taninos, saponinas y ácido fítico son estables al tratamiento térmico, pero pueden ser reducidas por descascarillado, remojo, germinación y fermentación (Muzquiz y col., 2012).

#### **4. Germinación-selenización**

##### **a. Germinación**

La germinación es la causa de muchos cambios bioquímicos en las semillas de leguminosas. Mejora su calidad nutricional al aumentar el contenido de vitaminas (ácido ascórbico, riboflavina, niacina, tocoferoles, tiamina y ácido pantoténico), y al reducir el contenido de anti nutrientes (taninos, ácido fítico y  $\alpha$ -galactósidos). Este proceso también mejora la digestibilidad de proteínas y almidón (Ferreira y col., 2020; Ohanenye y col., 2020; Raza y col., 2019).

Durante el proceso de germinación, el contenido de proteína en garbanzos aumenta de un 11-16% comparado con garbanzo sin germinar. Del mismo modo, los garbanzos durante la germinación aumentan (13-17%) su contenido en fibra dietaría. El garbanzo incrementa su contenido de humedad 6-8% debido al tiempo de germinación. En cambio, los carbohidratos

del garbanzo se reducen (2-6%) durante la germinación. El contenido de carbohidratos en el garbanzo germinado oscila entre 38-63%. El contenido de lípidos en los garbanzos se reduce (16-24%) y su contenido en los garbanzos germinados oscila entre 3-6%. Incluso, las cenizas de los garbanzos se reducen (6-8%) durante la germinación, constituyendo el 2-4% del peso seco del grano. Cabe destacar que la composición proximal de la harina de garbanzo varía con respecto al tiempo de germinación (Desalegn, 2015; Domínguez-Arispuro y col., 2018; Ferreira y col., 2019; Ghavidel y col., 2007; Kumar y col., 2020b; Kumaraguru y col., 2011; Ouazib y col., 2015; Sofi y col., 2020; Uppal y col., 2012)

Una investigación realizada por Xu y col. (2019a) reportan que la germinación mejora la capacidad de adsorción de agua de las harinas de garbanzo. Además, varias investigaciones consideran a las harinas de garbanzo germinados una buena opción para la formulación de alimentos funcionales, debido a que son ricas en compuestos antioxidantes, proteínas y fibra dietética (Domínguez-Arispuro y col., 2018; El-Adawy, 2002; Ferreira y col., 2019; Wu y col., 2012; Xu y col., 2018; Yegrem, 2021).

#### **b. Germinación biofortificado con Se**

La germinación en presencia de selenio (Se) es una alternativa para incrementar las propiedades saludables de las semillas (Serrano-Sandoval y col., 2019). El selenio (Se) es un mineral esencial para los humanos y su ingesta está limitada por las cantidades que los cultivos absorben del suelo. Los cereales y legumbres cultivados en suelos pobres en Se son la causa más común de su deficiencia en algunas partes del mundo (Lazo-Vélez y col., 2015). El déficit de consumo de selenio (menor de 15-30  $\mu\text{g}/\text{día}$ ) es un factor etiológico potencial en algunas enfermedades cardiovasculares, cancerosas, artríticas y neurodegenerativas que ponen en peligro la salud (Sobolev y col., 2020). Existen formas orgánicas (selenito, selenato,

seleniuro o elemental) e inorgánicas de selenio en la naturaleza (selenometionina y selenocisteína) (Kieliszek, 2019). Se ha encontrado que el selenito de sodio ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) agregado durante la germinación de semillas de garbanzo (hasta 2 mg/100 g de semillas) induce el estrés químico, el cual aumenta los isoflavonoides y la actividad antioxidante en los brotes y mejora las actividades de glutatión peroxidasa (GPx) y tiorredoxina reductasa (TrxR) (Guardado-Félix y col., 2017). GPx ejerce efectos quimiopreventivos porque reduce la concentración de hidroperóxido de lípidos y restringe la oxidación de lípidos en las células como un mecanismo de privación de energía (Guardado-Félix y col., 2019). La protección oxidativa del selenio ha sido ampliamente estudiada desde el punto de vista funcional de los alimentos (Fang y col., 2017b; Lazo-Vélez y col., 2016; Rzymiski y col., 2016). Guardado-Félix y col. (2020) reportaron que la suplementación de garbanzo germinado con selenio resultó en una mejor calidad de proteína, mayor contenido de lisina y capacidad antioxidante que la harina de trigo. Otros autores han reportado sobre la biofortificación con Se durante la germinación en soja (Huang y col., 2022a; Huang y col., 2022c), frijol (Cheng y col., 2023), trigo (Rocha y col., 2022), arroz (Dueñas y col., 2021) y maíz (Gastelum-Hernández y col., 2023).

Uno de los requisitos clave de la nutrición, es suministrar al cuerpo selenio en cantidades óptimas. En varios países se han desarrollado estándares de ingesta de selenio para adultos, que oscilan entre 55 y 120  $\mu\text{g}/\text{día}$  (Sobolev y col., 2020). Se han observado efectos tóxicos del selenio a dosis superiores a 400  $\mu\text{g}/\text{día}$  estableciendo un rango estrecho entre los efectos tóxicos y saludables de este elemento (Kipp y col., 2015; Reis y col., 2017).

## **5. Efecto a la salud**

El consumo de garbanzo ha sido asociado con algunos beneficios a la salud que pueden reducir el riesgo de enfermedades crónico-degenerativas (Cuadro 1). Estos efectos se han relacionado por la presencia de fibra soluble, isoflavonas, fitoesteroles y saponinas, considerando al garbanzo como potencial alimento funcional (Jukanti y col., 2012; Kumari, 2023). El consumo del garbanzo se le atribuye la disminución de factores de riesgo de enfermedades crónico- degenerativas, como diabetes (Aisa y col., 2019; Klongklaew y col., 2022; Li y col., 2021), síndrome metabólico (Aisa y col., 2019; Li y col., 2021), cáncer (Bochenek y col., 2019; Cid-Gallegos y col., 2023; Milán-Noris y col., 2023; Sánchez-Chino y col., 2019), inflamación (Juárez-Chairez y col., 2022; Milán-Noris y col., 2018) y obesidad (Radlowski y col., 2022).

## **6. Alimentos producidos con garbanzo**

El garbanzo se consume principalmente como semilla, su preparación está determinada por factores étnicos y regionales (Ibrikci y col., 2003; Jukanti y col., 2012). Los garbanzos se pueden partir por la mitad y luego secar para formar chana-dal, que es una forma común de garbanzos secos que se utiliza en las cocinas del sur de Asia. En la india, la molienda de garbanzo se lleva a cabo con el fin de obtener una harina para preparar diferentes refrigerios (Rasool y col., 2015). Por otra parte, la harina de garbanzo puede mejorar el valor nutricional y digestibilidad de las proteínas mediante la fermentación de los productos a base de garbanzos como los productos de panadería (Di Biase y col., 2019; Gobbetti y col., 2020). La harina de garbanzo se puede extraer para hacer pastas, bocadillos inflados (Real y col., 2019) y bebidas (Danilo y col., 2019; Rochín-Medina y col., 2015).

**Cuadro 1.** Efectos benéficos de los nutraceuticos en el garbanzo.

Nutraceuticos relacionados	Detalles/ Efectos principales
<b>Hipoglucemiantes</b>	
Isoflavonas	<i>In vitro</i> , células HepG2 resistentes a la insulina (IR)/ Síntesis de compuestos de isoflavonas de aislado de garbanzo, indican efecto hipoglucemiante (Wei y col., 2017).
Péptidos	<i>In vitro</i> , células IR-HepG2/ Péptido hipoglucemiante de garbanzo CBP-75-3 mejoró la absorción de glucosa (Chen y col., 2023a). <i>In vivo</i> , ratones BALB-c/ Ratones tratados con alcalasa de hidrolizados de albumina de garbanzo (100mg/ml) exhibieron actividades hipoglucemiantes (Navarro-Leyva y col., 2023).
<b>Cáncer</b>	
Isoflavonas	<i>In vitro</i> , líneas de cáncer de mama (SKBr3 y MCF-7) / Brotes de garbanzo mostraron inhibición en la proliferación celular mediante mecanismo apoptótico dependiente de mitocondrias (Chen y col., 2015).
Péptidos	<i>In vivo</i> , hidrolizados de proteína de garbanzo en ratones macho ICR con cáncer de colon inducido por azoximetano, alimentados con una dieta normocalórica e hipercalórica/ Número similar de criptas aberrantes comparado con ratones sin cáncer (Sánchez-Chino y col., 2019). <i>In vitro</i> , Células de cáncer de mama MCF-7 y MDA-MB-231/ IC <sub>50</sub> de hidrolizado de alcalasa de 0.60 mg/ml y 0.63 mg/ml, respectivamente. El hidrolizado de proteína de garbanzo con alcalasa produjo péptidos bioactivos que inhibieron la actividad de ACE-I. (Gupta y col., 2019).
<b>Antioxidante</b>	
Péptidos	<i>In vitro</i> , CAA en Caco-2 / Las fracciones de proteínas mostraron antioxidantes por diferentes modos de acción, como la donación de electrones y la captación de radicales similares al peroxilo (Torres-Fuentes y col., 2015).
Péptidos	<i>In vitro</i> , DPPH, ABTS, poder reductor, y otros / Los péptidos de garbanzo a diferentes concentraciones mostraron cierta capacidad antioxidante y actividad reductora (Xue y col., 2015). <i>In vivo</i> , línea celular TPH-1/ Hidrolizado de proteínas de garbanzo restableció la actividad de SOD intracelular y eliminó el estrés de ROS e impidió la alimentación del inflammasoma NF-κB y NLRP3 (Rodríguez-Martin y col., 2022).
<b>Inflamación</b>	
Péptidos	<i>In vitro</i> , inhibición de producción de óxido nítrico por macrófagos murinos RAW 264.7/ concentrados de proteína de garbanzo germinado desi (IC <sub>50</sub> = 97.31 ± 19.13 µg/mL) y kabuli (IC <sub>50</sub> = 90.70 ± 20.21 µg/mL)(Milán-Noris y col., 2018).
Isoflavonas	<i>In vivo</i> , ratones KM macho alimentados con una dieta alta en grasas/

Biocanina A Disminución de expresión hepática 1,6 veces en la expresión de ARNm en comparación con el grupo control del TNF- $\alpha$  (Xue y col., 2018).

### **Microbiota (prebiótico)**

Fibra *In vivo*, 50 ratas macho Sprague Dawley/ Las ratas que ingirieron fibra dietética de garbanzo beneficiaron su ecosistema bacteriano intestinal con el aumento de *Bacteroides* y *Lactobacillus* (Han y col., 2021).

Oligosacáridos *In vivo*, 50 ratones machos ICR / *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* aumentaron significativamente después del tratamiento de  $\alpha$ -galactooligosacáridos de garbanzos (Dai y col., 2017).

*In vitro*, la fermentación de ciceritol del garbanzo, promueve el crecimiento del grupo *Lactobacillus-Enterococcus* y *Bifidobacterium spp.*, y detiene el crecimiento de *Bacteroides-Prevotella*, *Eubacterium-Clostridium* y *C. histolyticum* (Zhang y col., 2017).

### **Diabetes**

Isoflavonas *In vivo*, ratas con T2DM/ Activación de vía de polioles y regulación de PARP sobreproduce NADH, causando desequilibrio redox NAD<sup>+</sup>/ NADH; mejorando con flavonoides del garbanzo (Fu y col., 2022).

Péptidos *In vitro*, hidrolizado de proteína de garbanzo germinado inhibe la producción de DPP-IV en Caco-2 (Chandrasekaran y col., 2023).

### **Obesidad**

Péptidos *In vivo*, ratones macho C57BL/6 con dieta rica en grasas/ ratones con dieta de hidrolizados de proteína de garbanzo obtuvieron menos peso corporal, reducción de proteínas inflamatorias en plasma, regulación de genes de insulina y metabolismo de lípidos y señalización de adipocinas (Radlowski y col., 2022).

### **Síndrome metabólico**

Saponinas *In vitro*, inhibición enzimática /El garbanzo mostró efecto inhibitor sobre la  $\alpha$ -amilasa, la  $\alpha$ -glucosidasa y la lipasa (Ercan y col., 2016).

Péptidos *In vivo*, hidrolizado de proteína de garbanzo, reduce el colesterol en ratas inhibiendo enzimas que promueven la síntesis de colesterol intracelular y aumentan excreción de colesterol en heces (Real y col., 2019).

Además de estas aplicaciones, la harina de garbanzo se puede usar para producir aislados de proteínas, que han ganado un interés creciente debido a sus propiedades emulsionantes, saborizantes y estructurantes (Ladjal-Ettoumi y col., 2016),

Además de estas aplicaciones, la harina de garbanzo se puede usar para producir aislados de proteínas, que han ganado un interés creciente debido a sus propiedades emulsionantes, saborizantes y estructurantes (Ladjal-Ettoumi y col., 2016), se han propuesto con éxito para formulaciones innovadoras (Ma y col., 2016) y productos sin gluten (Alu'datt y col., 2017). Existe un excelente potencial para desarrollar productos probióticos como el queso Cotija (Josefina y col., 2003) y yogurt complementado con harina de garbanzo (Aguilar-Raymundo y col., 2019; Morales de León y col., 2000)

Los garbanzos cocidos, como los que están enlatados, se pueden triturar y mezclar con otros ingredientes para hacer hummus en su versión salada o dulce. El hummus es un alimento popular que puede formar parte de una dieta equilibrada debido a su composición nutricional.

Los garbanzos enlatados también se pueden tostar para hacer diferentes snacks (Real y col., 2019). Aunque los garbanzos cocidos no se fermentan comúnmente, el miso a base de garbanzo está disponible comercialmente. En los últimos años, el agua a menudo desechada que se encuentra en los garbanzos enlatados, denominada aquafaba, ha ganado popularidad como emulsionante a base de plantas en emulsiones como la mayonesa porque se puede usar en productos alimenticios veganos (Real y col., 2019).

En Asia y África, el garbanzo se usa en guisos, sopas y ensaladas y se consumen hervidos, saladas, asadas y fermentadas (Rasool y col., 2015), dentro de la cocina hindú el garbanzo se utiliza para la elaboración de buñuelos fritos y panqueques. En Italia para elaborar panisa y faina.

En Francia utilizan esta legumbre para la elaboración de socca (López, 2016). En México, el garbanzo se consume en fresco, fritos con chile como aperitivo o secados al sol. Para alimentos tradicionales se utiliza en sopas, cremas, harina para la preparación de atole y mondongo (Aguilar-Raymundo y col., 2013). Estas diferentes formas de consumo brindan a los consumidores una valiosa nutrición y beneficios a la salud.

## **B. AISLADOS Y CONCENTRADOS PROTEICOS**

Según el contenido de proteína resultante de extracción, se clasifica como aislado (>90%) o concentrado (>70% y <90%) (Sachdev y col., 2021).

Los aislados de proteína son la forma más pura de proteína comercial, puesto que contienen el 90% o más de este nutriente. Se obtiene eliminando polisacáridos, grasas, fibras y otros componentes que pueden enriquecer la proteína deseada de la fuente. (Grasso y col., 2022; Vioque y col., 2001). Aunque los concentrados de proteínas tienen mejores propiedades químicas que las harinas de grano entero, todavía contienen una cantidad considerable de otros compuestos indeseables (fibra, azúcares reductores, fenólicos, lípidos y glucosinolatos) en el producto final (Cornelio, 2020; Vioque y col., 2001).

El perfil, la calidad y la funcionalidad de las proteínas variarán según el método de purificación (Ismail y col., 2020). La precipitación isoeléctrica es el proceso más común, para ingredientes comerciales de proteínas (Ismail y col., 2020; Peydayesh y col., 2022) debido a la complejidad y el costo de otras técnicas de purificación como la filtración por membrana y la extracción de sal (Grasso y col., 2022; Ismail y col., 2020).

Elegir un método de extracción de proteínas adecuada es fundamental (Onder y col., 2022) debido a que esto afecta la composición, propiedades nutricionales y funcionales del producto final (Mesfin y col., 2021; Onder y col., 2022). Las propiedades de solubilidad,

retención de agua y aceite, emulsionantes, espumantes y gelificantes se encuentran entre las características más importantes en las aplicaciones alimentarias (Grasso y col., 2022). La solubilidad de la proteína es la característica funcional más crucial en un ingrediente alimentario, dado que su nivel de solubilidad ejerce un significativo efecto en propiedades como la capacidad de formar espuma, emulsionar y gelificar (Mohan y col., 2020). Aislados/concentrados con más 80% de proteína (bs), obtenidos a partir de harinas de garbanzo, exhiben una amplia variedad de propiedades funcionales; esto sugiere que tienen un uso potencial para la formulación diversos productos y sistemas alimentarios (Goertzen y col., 2021). Ramani y col. (2021) reportaron que los aislados de proteínas exhibieron propiedades funcionales superiores en comparación con la harina.

### **1. Usos y aplicaciones**

La mayoría de las aplicaciones tienen lugar en alimentos tradicionales que ya tienen establecidos una serie de parámetros de utilización y calidad. Para tener éxito en estos productos, los aislados deben mantener esta calidad. Esto quiere decir igual o similar color, sabor, aroma, textura y composición química y nutricional. Estos requerimientos, exigidos por el consumidor, determinan el grado de sustitución proteica (Vioque y col., 2001).

Los aislados de proteínas comunes utilizados en los sistemas alimentarios son de soja, lácteos y trigo, pero, debido a las preferencias y restricciones dietéticas (p. ej., vegetarianismo y alergias alimentarias), también se están investigando otras fuentes de proteínas, como las legumbres. Al preparar aislados de proteínas, se pueden preservar las propiedades nutricionales y evitar los efectos negativos de los factores anti nutricionales (Mohan y col., 2020).

Los concentrados y aislados de plantas son ampliamente utilizados en productos alimenticios para mejorar la calidad nutricional de los productos, debido a sus propiedades orgánicas, sus beneficios, la reducción de alergias y la creación de nuevos productos como ingredientes funcionales junto con una creciente demanda de "alimentos de origen vegetal". El uso de los aislados se ha utilizado comercialmente en formulas infantiles, suplementos proteicos, carnes magras y bebidas nutritivas para adultos (Vioque y col., 2001; Wong y col., 2004).

En 2022, los alimentos y las bebidas dominan el mercado de proteínas de origen vegetal en términos de valor y volumen. Las industrias de sustitutos de lácteos y de carne tuvieron una participación de volumen combinada del 31%. Actualmente, alrededor de 79 millones de personas son veganas. Sin embargo, se espera que segmento de cuidado personal y cosméticos supere el segmento de alimentos y bebidas debido a que ha tenido un gran auge y demanda en los últimos años (Intelligence, 2023).

## **C. SELENIO**

### **1. Generalidades**

En 1817, en la ciudad sueca de Gripsholm, el químico Jacob Berzelius descubrió el selenio (Se) (Kieliszek, 2019). El nombre de esta sustancia deriva de la palabra griega “selene”, que significa “luna” (Zhang, 2019). Es un semimetal que se encuentra en el grupo 16 (llamado oxoácidos) de la tabla periódica. (Adewale y col., 2022; Kieliszek, 2019). El selenio elemental ( $\text{Se}_0$ ) se encuentra de manera inorgánica como seleniuros ( $\text{Se}^{2-}$ ), selenatos ( $\text{SeO}_4^{2-}$ ) y selenitos ( $\text{SeO}_3^{2-}$ ) (Imran y col., 2023; Yang y col., 2022) y de forma orgánica como selenocisteína, selenometionina, metilselenocisteína y  $\gamma$ -glutamil metilselenocisteína (Yang y col., 2022). El selenio es un elemento esencial para la actividad de numerosas enzimas

(Hariharan y col., 2020). El papel más conocido del selenio se atribuye a su presencia en las glutatión-peroxidasas (GPx) y la tiorredoxina reductasa (TrxR) (Guardado-Félix y col., 2017; Li y col., 2014).

## **2. Importancia en nutrición humana**

Por su importancia, alta relevancia médica y bioquímica distintiva, el selenio es un micronutriente que destaca (Schomburg, 2021). Con la ayuda de selenoproteínas y selenoenzimas, de vital importancia biológica para la salud, este nutriente lleva a cabo su función fisiológica (Akahoshi y col., 2019; Brigelius-Flohé y col., 2017; Hariharan y col., 2020). El selenio de la dieta, ya sea de origen orgánico o inorgánico, se absorbe en el tracto gastrointestinal y luego se transporta al hígado, donde se metaboliza y se utiliza para producir selenoproteínas, antes de distribuirse a otros tejidos del cuerpo (Ferreira y col., 2021). El consumo de este nutriente beneficia la salud cardiovascular, mental, digestiva, respiratoria, tiroidea, inmunológica y sanguínea, por sus propiedades antiinflamatorias, neurológicas, inmunomoduladoras, antihipertensivas y antioxidantes (Brigelius-Flohé y col., 2017; Hossain y col., 2021; Kieliszek, 2019; Razaghi y col., 2021; Zhang y col., 2020).

El contenido de selenio en el cuerpo humano oscila entre 3 a 6 mg y 13 a 20 mg, según la ubicación geográfica (Adewale y col., 2022; Kuršvietienė y col., 2020). Dependiendo de su sexo y condición corporal (peso, embarazo, etc), la OMS aconseja que los adultos consuman entre 40 y 70  $\mu\text{g}/\text{día}$  de Se (Bjørklund y col., 2022). Por encima de 800  $\mu\text{g}/\text{día}$  se considera tóxico; 400  $\mu\text{g}/\text{día}$  es el límite superior seguro (Steinbrenner y col., 2022; Tóth y col., 2018).

Los efectos del Se sobre la salud dependen de la dosis, con un rango estrecho entre los niveles requeridos, óptimos y tóxicos (Bjørklund y col., 2022; Kieliszek, 2019).

### 3. Deficiencia y toxicidad

El selenio es importante para la salud humana, pero aún no se comprenden bien sus principales efectos sobre el suministro, la especiación y la absorción (Kazi Tani y col., 2020). La cantidad de Se presente está determinada por la concentración del suero sanguíneo (Hossain y col., 2021). Los niveles de Se en plasma deben estar entre 120 y 60 ng/ml (Bjørklund y col., 2022). Se desconoce la cantidad de selenio necesaria para una salud humana óptima. Las recomendaciones de ingesta diaria de Se actuales se basan en niveles que maximizan la actividad de GPx en plasma (Oropeza-Moe y col., 2015).

Actualmente la deficiencia de Se es un problema a nivel mundial (Imran y col., 2023). Niveles bajos de Se en el cuerpo aumentan el riesgo de estrés oxidativo (Mertens y col., 2015; Oropeza-Moe y col., 2015), enfermedad de Keshan (Loscalzo, 2014; Oropeza-Moe y col., 2015), esclerosis sistémica (Sun y col., 2020a), Sepsis (Castel y col., 2021; Mertens y col., 2015; Oner y col., 2023), virulencia viral (incluido SARS-CoV-2) (Khatiwada y col., 2021; Moghaddam y col., 2020; Younesian y col., 2021), ciertos tipos de cáncer (Männle y col., 2020; Rua y col., 2023; Shimada y col., 2022), disfunción tiroidea (Matvyeyeva, 2021; Pirola y col., 2020) y disminuye el sistema inmune (Wang y col., 2009; Zhai y col., 2018).

La suplementación dietética con Se por encima de los niveles adecuados produce metabolitos reactivos de Se que alteran las vías metabólicas o de señalización (Steinbrenner y col., 2022). Niveles altos de selenio se han asociado con el riesgo de desarrollar diabetes tipo 2 (Kim y col., 2019; Wang y col., 2020), hipertensión (Bastola y col., 2020; Vinceti y col., 2019a), ciertos tipos de cáncer (An y col., 2023; Narod y col., 2019), neurotoxicidad (Naderi y col., 2021; Patti y col., 2020), esclerosis (Vinceti y col., 2019b), entre otros.

#### **D. SIMULACIÓN DE DIGESTION GASTROINTESTINAL**

La creciente demanda de productos de alta calidad para mejorar la salud humana ha generado desafíos en producción, sostenibilidad y seguridad (Simões). Los enfoques actuales buscan abordar estos desafíos mediante la incorporación de compuestos bioactivos como carbohidratos, proteínas, grasas, vitaminas y probióticos, reconocidos como seguros, en el desarrollo de alimentos funcionales (Gonçalves y col., 2021). Además, se ha explorado la categoría de alimentos excipientes, que contienen ingredientes que, aunque carecen propiedades bioactivas por sí mismos, pueden mejorar la eficacia de un compuesto bioactivo de calidad alimentaria cuando se ingieren en conjunto (McClements, 2015). En este contexto, la simulación gastrointestinal se destaca como una herramienta valiosa que proporciona conocimientos detallados sobre las interacciones entre alimentos e ingredientes en el sistema digestivo.

Los modelos de digestión *in vitro* se han desarrollado desde la década de 1990 para ser utilizados en estudios de digestión de alimentos. Estos modelos son fundamentales para estimar el comportamiento *in vivo* de los alimentos (Ferrua y col., 2010; Li y col., 2020). Por lo tanto, la necesidad de modelos *in vitro* que imiten de cerca los procesos fisiológicos (regulación en tiempo real del pH, el flujo de alimento y la infusión de enzimas digestivas en diferentes compartimentos del tracto gastrointestinal) que ocurren durante la digestión humana ha llevado al desarrollo de modelos de digestión *in vitro* como alternativas a la digestión *in vivo* (Dupont y col., 2019; Sousa y col., 2020). Los modelos *in vitro* son los preferidos en la investigación médica, alimentaria y nutricional debido a su velocidad, condiciones estandarizadas, costo y reproducibilidad (Sensoy, 2021). Imitan procesos de digestión

(bioaccesibilidad) y absorción (biodisponibilidad) y la respuesta medida es la cantidad de un nutriente en el extracto final (Santos y col., 2019).

La bioaccesibilidad de compuestos bioactivos y nutrientes se determina mediante la liberación de la matriz alimentaria, la simulación de la digestión gastrointestinal y la asimilación por el epitelio intestinal (Santos y col., 2019). Mientras que la biodisponibilidad, se realiza midiendo la permeabilidad o la captación de moléculas pequeñas utilizando tejidos, cultivos celulares y membranas artificiales (Caicedo-Lopez y col., 2019; Vega-Rojas y col., 2021). La absorción final se evalúa con cultivos de células Caco-2 (línea celular de carcinoma de colon humano polarizado) (Santos y col., 2019), el modelo celular más utilizado (Vega-Rojas y col., 2021), debido a su capacidad de adquirir características funcionales y morfológicas similares a los enterocitos del intestino delgado (Lozoya-Agullo y col., 2017; Schoultz y col., 2020). Por otra parte, para evaluar o determinar ingredientes eficaces biológicamente activos, se realiza un ensayo celular de antioxidantes en macrófagos murinos RAW 264.7 (Zhu y col., 2022).

### **1. Digestión *in vitro***

En los últimos años, los sistemas de digestión *in vitro* se han vuelto populares y se utilizan ampliamente en la investigación de alimentos nutricionales o farmacéuticos, debido a que son más rápidos, más reproducibles, más baratos, menos laboriosos y sin restricciones éticas en comparación a las pruebas *in vivo* en animales o humanos (Li y col., 2020). El modelo estandarizado de digestión *in vitro* INFOGEST 2.0 se utiliza ampliamente para simular procesos fisicoquímicos que ocurren en el tracto gastrointestinal humano (boca, estómago e intestino delgado) y comprende cómo los efectos de la matriz alimentaria afectan

la digestión y la bioaccesibilidad determinada bajo el modelo gastrointestinal INFOGEST 2.0 (Brodkorb y col., 2019; Tan y col., 2020).

#### **a. Fase oral**

Los alimentos ingresan al sistema digestivo a través de la boca, donde se descomponen en pequeños pedazos y se mezclan con la saliva para acelerar su paso por el sistema digestivo (Ketel y col., 2019). La saliva es un medio acuoso viscoso complejo producido por las glándulas salivales, que contiene 99.5% de agua, 0.3% de proteínas/enzimas y varios electrolitos como sodio, potasio, calcio, magnesio, fosfato y bicarbonato. Las enzimas son capaces de modificar parcialmente las estructuras y composiciones de los alimentos (Li y col., 2020). La saliva secretada por las glándulas salivales humedece y comienza a disolver el alimento con la acción de la enzima  $\alpha$ -amilasa (Bohn y col., 2018; Sensoy, 2021). Durante la deglución, el bolo es impulsado desde la boca a través de la faringe hacia el esófago (Sensoy, 2021). El método *in vitro* INFOGEST 2.0 descrito por Brodkorb y col. (2019) comienza con  $\alpha$ -amilasa a pH 7. Para imitar el proceso de masticación, se recomienda utilizar tamaños de partículas pequeños (50 a 1000  $\mu\text{m}$ ) y un tiempo de contacto con la enzima de 2 minutos y una temperatura de 37° C para la fase oral simulada.

#### **b. Fase gástrica**

El proceso de digestión en el estómago involucra procesos físicos y químicos. Los parámetros físicos como las contracciones afectan el tamaño de las partículas y los parámetros químicos como la secreción de ácido clorhídrico y las enzimas digestivas (pepsina y lipasa) tienen un impacto en el ablandamiento de los alimentos y la hidrólisis de los nutrientes (Amigo y col., 2020; Sensoy, 2021). El ambiente ácido (por la secreción de ácido gástrico, HCl) pH 3 activa la pepsina secretada y provoca la desnaturalización de los alimentos (Li y

col., 2020), el modelo INFOGEST 2.0 en la fase gástrica *in vitro* recomienda un tiempo de contacto de 2h a 37°C.

### **c. Fase intestinal**

La mayor parte del proceso de convertir los alimentos en una forma adecuada que el cuerpo pueda utilizar tiene lugar en el intestino delgado. Este tiene dos funciones principales en la digestión y absorción, (1) descomposición de macromoléculas y (2) absorción de agua y nutrientes (Li y col., 2020). El quimo entrante estimula al páncreas para que libere una solución concentrada de bicarbonato ( $\text{NaHCO}_3$ ) que neutraliza el jugo gástrico altamente ácido, para la actividad de las enzimas proteasas (tripsina y quimotripsina), lipasa pancreática y amilasa pancreática (Amigo y col., 2020; Sensoy, 2021). La digestión *in vitro* del intestino delgado, se realiza a pH 3, 37°C durante 2h, simulando el jugo pancreático, electrolitos, sales biliares y las enzimas (Brodkorb y col., 2019).

## **2. Bioaccesibilidad, biodisponibilidad y bioactividad péptidos e isoflavonas.**

La digestión *in vivo* e *in vitro*, así como varios procesos de tecnología alimentaria, particularmente la germinación, puede liberar péptidos bioactivos de las proteínas (López-Barrios y col., 2016; López-García y col., 2022). Se ha reportado sobre los beneficios a la salud de péptidos liberados a partir proteínas vegetales (bioaccesibilidad) (López-García y col., 2022; Udenigwe y col., 2012) al llegar a su sitio de acción sin cambios estructurales (Sun y col., 2020b) de forma intacta y accesibles para ejercer dichos beneficios a la salud (Amigo y col., 2020).

Las proteínas ingeridas se descomponen y absorben en el tracto gastrointestinal después de ser desnaturalizadas por el ácido gástrico (con ayuda de la pepsina) e hidrolizadas en pequeños péptidos y aminoácidos (AA) por las proteasas gástricas y pancreáticas (Martínez

Augustin y col., 2006). Sólo una pequeña cantidad de AA se secreta en el estómago y la mayoría de los péptidos liberados por las proteínas llegan a los intestinos (Xu y col., 2019c). La absorción de péptidos en el tracto gastro intestinal se desempeña principalmente en el intestino delgado (Sun y col., 2020b). Los factores que regulan la biodisponibilidad del transporte intestinal de los péptidos bioactivos son influenciados por el peso, carga y tamaño molecular, hidrofobicidad, flexibilidad de cadena lateral y secuencia de AA (Amigo y col., 2020; Xu y col., 2019c). Para ejercer actividad biológica, los péptidos deben pasar a través del epitelio intestinal, donde son digeridos aún más por enzimas citoplásmicas y del borde en cepillo (Abeer y col., 2021). Los péptidos se absorben a través de la monocapa de células epiteliales por las siguientes vías: transporte mediado por portadores, transporte paracelular, transcitosis y difusión transcelular pasiva (Xu y col., 2019c). Una vez que los AA y péptidos logran atravesar la barrera intestinal a la sangre, entran a la circulación sistémica y son utilizados por tejidos periféricos (Martínez Augustin y col., 2006).

Estudios han reportado interacción proteína-polifenoles en los alimentos, han demostrado que las proteínas pueden unirse a los polifenoles y, por lo tanto, generar complejos solubles o insolubles (de Morais y col., 2020; Hazafa y col., 2020; Papadopoulou y col., 2004), las interacciones proteína-polifenol pueden afectar la biodisponibilidad de los compuestos (Karaş y col., 2017). Los flavonoides pertenecen a toda la clase de polifenoles, seis de los cuales se encuentran en alimentos vegetales: flavan-3-oles, flavonoles, antocianinas, isoflavonas, flavanonas y flavonas, algunas clases se limitan a determinados alimentos, por ejemplo, las isoflavonas se encuentran en leguminosas (Thilakarathna y col., 2013). Los flavonoides al no ser permeados en el estómago y el intestino delgado, son metabolizados en metabolitos de bajo peso molecular por la microbiota del colón en el

intestino grueso (Bordenave y col., 2014). Debido a la alta hidrofobicidad y la pequeña estructura molecular de las agliconas flavonoides, pueden absorberse directamente en las células epiteliales vellosas de la pared del intestino delgado mediante difusión pasiva en (Chen y col., 2022). Los glucósidos flavonoides tienen mayor hidrofiliidad y peso molecular debido a la unión de grupos de glicósidos, sólo pueden absorberse después de que la flora intestinal los haya hidrolizado en agliconas o ácidos fenólicos (Williamson y col., 2018). Ensayos *in vitro* (Caco-2) revelaron que flavonoides hidrófobos permean mejor, en contraste a los glucosidos flavonoides debido a la presencia de grupos de azúcar que aumentan la hidrofilia, reduciendo la permeación de membrana (Gonzales y col., 2015).

#### **IV. JUSTIFICACIÓN**

Las leguminosas son alimentos básicos para gran parte de la población mexicana, especialmente en los sectores de bajos ingresos. Además de ser una fuente importante de nutrientes, contienen compuestos bioactivos. A pesar de esto, su producción y consumo ha disminuido debido a los nuevos estilos de vida y hábitos de alimentación, generando un aumento importante en la incidencia y prevalencia de enfermedades no transmisibles como cáncer y obesidad. El consumo de leguminosas ha sido relacionado con la prevención y disminución de enfermedades relacionadas al estrés oxidativo y metabolismo lipídico. En los últimos años el garbanzo desi pigmentado ha sido adaptado de forma experimental a suelo Sinaloense, pero sigue sin explotarse a pesar de ser una fuente importante de fitoquímicos con buena calidad proteica. Por lo que, además del análisis de los fitoquímicos, es importante diseñar procesos que permitan recuperar al máximo los compuestos bioactivos y aprovechar su valor nutrimental y nutracéutico. A través de procesos de transformación innovadores, el garbanzo puede ser convertido en ingredientes que se incorporen en alimentos procesados que permitan cubrir las necesidades de diferentes perfiles de consumidores. Los compuestos selenizados, particularmente proteínas, así como selenoaminoácidos son reconocidos por su alto potencial anticancerígeno y antioxidante. Estos se sintetizan durante la germinación en presencia de selenio aunado a los cambios que se generan en el perfil fitoquímico promoviendo efectos benéficos para la salud. La utilización de garbanzo biofortificado con selenio resulta un interesante ingrediente a caracterizar para la formulación de alimentos funcionales. En especial por su contenido de flavonoides y proteínas selenizadas con potencial efecto biológico frente a enfermedades no transmisibles.

## V. HIPOTESIS

El proceso de germinación con la biofortificación de Selenio y la concentración de proteína en el garbanzo desi generará ingredientes funcionales con compuestos antioxidantes y anti-inflamatorios bioaccesibles y biodisponibles (*in vitro*) que servirá como auxiliar en la prevención de enfermedades no transmisibles.

## **VI. OBJETIVOS**

### **A. OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el efecto de la germinación-selenización, concentración de proteína y simulación de digestión gastrointestinal en harinas y concentrados proteicos de garbanzo desi verde y negro sobre características fisicoquímicas, tecnofuncionales, la bioaccesibilidad y biodisponibilidad *in vitro* de compuestos antioxidantes y anti-inflamatorios.

### **B. OBJETIVOS ESPECIFICOS**

1. Estimar el efecto de la germinación-selenización y concentración de proteína sobre las propiedades fisicoquímicas y tecnofuncionales de las harinas del garbanzo desi verde y negro.
2. Valorar el efecto de la germinación-selenización y simulación gastrointestinal sobre la bioaccesibilidad de compuestos bioactivos de las harinas y concentrados proteicos del garbanzo desi verde y negro.
3. Evaluar de la biodisponibilidad *in vitro* por permeabilidad celular en Caco-2 de las isoflavonas de los digeridos de fase absorbible de las harinas y concentrados proteicos del garbanzo desi germinado-selenizado de ambas variedades.
4. Determinar la actividad antioxidante celular (Caco-2) y anti-inflamatoria (RAW 264.7) de las isoflavonas absorbidas por permeabilidad celular en Caco-2 de las harinas y concentrados proteicos del garbanzo desi germinado-selenizado de ambas variedades.
5. Evaluar la actividad antioxidante celular (Caco-2) y anti-inflamatoria (RAW 264.7) de los compuestos bioactivos de los digeridos y fracción peptídica (<10kDa) de la fase no absorbible de las harinas y concentrados proteicos del garbanzo desi germinado-selenizado de ambas variedades

## **VII. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **A. MATERIA PRIMA**

La variedad de garbanzo verde y negro (tipo desi, ICC5613 y ICC3761) cosechada durante el periodo de abril-mayo de 2019 en la estación experimental de INIFAP (Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias), ubicado en Culiacán, Sinaloa, México. Las semillas cosechadas se limpiaron y almacenaron a -20°C hasta su uso.

### **B. PROCESAMIENTO DEL GARBANZO**

#### **1. Germinación con selenio**

Las semillas de garbanzo se germinaron a escala industrial en Alimentos Lee (Apodaca, Nuevo León, México) con la metodología descrita por (Serrano-Sandoval y col., 2022). Brevemente, después de su desinfección, las semillas de garbanzo se hidrataron durante 6 h con una solución de 50 mg/L de selenito de sodio ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU.) en una relación 1:3 peso/volumen (p/v). Enseguida, las semillas hidratadas fueron germinadas bajo condiciones controladas de ciclos luz/oscuridad, durante 48h a  $20 \pm 2^\circ$  C y 80% de humedad relativa. Los granos germinados se secaron a  $55^\circ$  C durante 12 h en un horno de convección forzada de gas 10 GN1/1 (Electrolux, STO, Suecia). Las semillas de garbanzo secas se molieron en un molinillo Modelo estándar no. 5 Wiley Mill (Swedesboro, NJ, EE. UU.) y se pasaron a través de un tamiz de malla núm. 60.

#### **2. Obtención de Aislado Proteico**

##### **a. Punto isoeléctrico**

La concentración de proteína se realizó con la metodología descrita por Milán-Noris y col. (2018). La harina de garbanzo germinado se desengrasó con hexano (1:4, p/v) en agitación a 500 rpm durante 4 h, y la torta desengrasada se secó durante la noche a  $25^\circ$  C. La

torta desengrasada (300 g) se suspendió en agua (1:10, p/v) y se mezcló durante 1 min. Las proteínas se extrajeron a pH 8.5 utilizando una solución 1M de NaOH y una velocidad de agitación continua de 500 rpm durante 2 h. La suspensión de harina se centrifugó a 10 000 xg durante 10 min y el sedimento se extraerá nuevamente usando las mismas condiciones. Para la precipitación de proteínas, los sobrenadantes clarificados se agruparon y se ajustaron a pH 4.5 usando 1M de HCl. El precipitado de proteína se centrifugó a 10 000 xg durante 10 min, y el sedimento se liofilizó y almacenó a -20 °C hasta su análisis.

## **C. PROPIEDADES FISICOQUIMICAS**

### **1. Análisis Proximal**

El análisis de composición química del aislado se realizó de acuerdo con los métodos de la AOAC 2005. El contenido de proteína (Nx6.25) se determinó bajo las condiciones descritas por el método 978.04. Además, la recuperación de proteína se calculó basándose en el contenido inicial de proteína de harina de garbanzo.

### **2. Determinación de selenio**

Se determinaron las concentraciones totales de selenio en los brotes de garbanzo siguiendo el método descrito por Guardado-Félix y col. (2017). Los brotes fueron sometidos a digestión en solución acida utilizando un microondas. Para llevar a cabo la digestión ácida en los brotes, se mezclaron 0.2 g de muestra con 4 mL de HNO<sub>3</sub> al 77%. La mezcla resultante se sometió a una digestión en un sistema de microondas cerrado (Mars 5 CEM, Matthews, NC, EE. UU.) durante 15 minutos, elevando la temperatura desde ambiente hasta 180° C; manteniendo la temperatura a 180 ° C durante 10 min, y luego se reduciéndola a 50° C por 20 min. Después de la digestión, las muestras se ajustaron a 5 mL con agua doblemente desionizada, se transferirán a viales de 20 mL y se almacenaron a 4 ° C hasta su análisis.

Se empleó un espectrómetro de masas de plasma acoplado inductivamente X series 2 (ICP/ MS) (Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA) con un nebulizador concéntrico de vidrio Tipo C (Meinhard, Golden, CO, EE. UU.) para medir el contenido de selenio en la digestión ácida. La tasa de acumulación de selenio se calculó tomando en cuenta la cantidad total de selenio absorbida por 100g de semilla hidratada con 2 mg de  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ .

### 3. pH

Se empleó el método potenciométrico (Espinosa-Ramírez y col., 2016), atemperando la muestra con agitación durante 30 en una proporción 1:30 con agua destilada. Posteriormente, se llevó a cabo la medición de pH utilizando un potenciómetro.

### 4. Actividad de agua

La actividad del agua ( $a_w$ ) se midió en un higrómetro Aqua Lab Modelo CX-2 (Decagon Devices Inc, Pullman, WA, EE. UU.). La lectura se tomó después de alcanzar el equilibrio del espacio de cabeza de la muestra (3 g) (40-60 min). Se realizó por triplicado para cada muestra.

### 5. Color

La determinación de color se realizó de acuerdo a lo descrito por Milán-Noris y col. (2019), utilizando un colorímetro Modelo CR210 (Minolta LTD, Japón) con escala CIELAB, donde se registraron los siguientes parámetros:  $L^*$  (0 “oscuro” - 100 “claro”), coordenadas cromáticas  $a^*$  (+ $a^*$ : rojo, - $a^*$ : verde),  $b^*$  (+ $b^*$ : amarillo, - $b^*$ : azul), y diferencia de color ( $\Delta E$ ):

$$\Delta E = \frac{(-2.85 - L^*)^2 + (0.78 - a^*)^2 + (97.63 - b^*)^2}{2} \quad \text{Ec. (1)}$$

## D. PROPIEDADES TECNOLÓGICAS

### 1. Índices de absorción en agua/aceite y solubilidad en agua

Se llevo a cabo siguiendo los procedimientos descritos por Huang y col. (2022b) y Milán-Noris y col. (2019), con ligeras modificaciones. Se colocaron 0.250g de muestra en un tubo de centrifuga de 50 mL previamente pesados, se agregaron 7.5 mL de agua o aceite y se agitó la mezcla. Los tubos con muestras de harina se sometieron a un baño maría a 70 °C durante 30 min, mientras que los tubos con concentrado proteico solo reposaron durante el mismo periodo. Después, se centrifugaron a 5 000 xg durante 10 min. Tras retirar la capa superior de agua o aceite, se pesaron las muestras con los tubos de centrifuga. El sobrenadante con agua se transfirió a un vial de vidrio previamente pesado a peso constante, determinando el contenido de sólidos secos después dejarlo en un horno toda la noche a 105 °C. Se calcularon los índices de absorción en agua/aceite (IAA/IAAc) y la solubilidad en agua (ISA):

$$IAA \left( \frac{g}{g} \right) = \frac{(\text{Vial con muestra}) + (\text{Vial con sedimento})}{\text{peso de la muestra}} \quad \text{Ec. (2)}$$

$$IAAc \left( \frac{g}{g} \right) = \frac{(\text{Vial con muestra}) + (\text{Vial con sedimento})}{\text{peso de la muestra}} \quad \text{Ec. (3)}$$

$$ISA (\%) = \frac{\text{Peso de los sólidos secos en el sobrenadante}}{\text{peso de la muestra}} \times 100 \quad \text{Ec. (4)}$$

## E. EVALUACIÓN NUTRACÉUTICA

### 1. Simulación de digestión gastrointestinal INFOGEST

La simulación de digestión gastrointestinal (SDG) *in vitro* se llevó acabo de acuerdo con el método descrito por Brodtkorb y col. (2019). En resumen, la cantidad de cada sustrato correspondiente a 5 g de proteína se disolvió en proporción 1:1 de agua para simular el bolo, diluido con fluido salival simulado (pH 7, 37 °C) y amilasa salival (75 U/mL de digesta)

durante 2 min con un volumen final de 10 mL. Luego, se añadió un volumen similar de jugo gástrico simulado (pH 3, 37 °C) con pepsina (2000 U/mL de digesta) y lipasa gástrica (60 U/mL de digesta) incubándose durante 120 min con un volumen final de 20 mL. Posteriormente, se incorporó una parte igual de jugo intestinal simulado (pH 7) con pancreatina (100 U de actividad de tripsina/mL de digesta) y bilis (10 mmol/L de digesta total), incubándose otros 120 min con un volumen final de 50 mL. La digestión se detuvo mediante calentamiento a 100 °C por 5 min, seguido de enfriamiento en hielo. Inmediatamente después de detener la digestión, las muestras se dividieron por centrifugación (13 000 ×g a 4 °C durante 15 min) en digerido soluble (S) e insoluble (I) mediante la recolección del sobrenadante y el sedimento, respectivamente. Finalmente, los digeridos se conservaron a -20°C antes de ser sometidos a liofilización.

## 2. Índices de bioaccesibilidad y recuperación de compuestos bioactivos

Los índices se calcularon de acuerdo a la metodología descrita por Coelho y col. (2022). El índice de bioaccesibilidad (IB) se calcula con el fin de comprender y estimar la cantidad de compuestos bioactivos disponibles para su absorción durante el proceso de digestión en el organismo humano (Ec. 5). Por otra parte, el índice de recuperación (IR) evalúa la eficacia con la que estos compuestos bioactivos pueden extraerse o recuperarse de la simulación de digestión gastrointestinal (Ec. 6).

$$\%IB = \frac{DS}{DS+DI} \times 100 \quad \text{Ec. (5)}$$

$$\%IR = \frac{DS+DI}{ND} \times 100 \quad \text{Ec. (6)}$$

La ecuación está representada por la cantidad de compuestos presentes en la fracción digerida soluble (DS) e insoluble (DI), y no sometida a digestión (ND).

### **3. Ultrafiltración**

Las fracciones peptídicas fueron obtenidas de acuerdo a lo descrito por (Sandoval-Sicairos, 2021). Primeramente, se tomó 1 g de muestra previamente digerida y liofilizada, se disolvió en 20 mL de buffer fosfato monobásico (pH 8) y luego se sónico durante 20 minutos. Luego, la muestra se centrifugó (4°C, 10 000xg, 10min). Para obtener péptidos con un tamaño inferior a 10 kDa, se recuperó el sobrenadante y se filtró a través de membranas de ultrafiltración (Amicon® Ultra-15 10K). Los filtrados se recuperaron tras una centrifugaron adicional (4°C, 4000 xg). Finalmente, las muestras se mantuvieron a -20°C hasta su proceso de liofilización.

### **4. Perfil de proteína (SDS-PAGE)**

El ensayo se basó en el método de Laemmli (1970). Las muestras se diluyeron en buffer Laemmli (Bio-Rad Laboratories) con 5%-β-mercaptoetanol y se sometieron a ebullición durante 5 minutos previos a cargarlas en un gel de separación de poliacrilamida al 15% (Bio-Rad). Se utilizaron los estándares Presicion Plus Protein™ Dual Color (Bio-Rad Cat.# 161-0374) y Spectra multicolor Low Range Protein Ladder (Thermo Scientific Cat.# 26628). La electroforesis se llevó a cabo a 110 Voltios durante 60 minutos en una solución fijadora compuesta por 10% de Buffer Tris Glicina y 90% de agua. Posteriormente, los geles fueron retirados del equipo y teñidos con una solución de azul de Coomassie R250 (Coomassie brilliant blue R250 1.25g, agua desionizada 200 mL, metanol 250 mL y ácido acético glacial 50 mL) durante toda la noche. Después de la tinción, los geles se lavaron con una solución para desteñir (agua destilada 670 mL, metanol 290 mL, ácido acético glacial 40 mL y ácido tricloroacético 35 g). Las imágenes se adquirieron utilizando el sistema de imagen Gel Doc™ XR+ Gel Documentation System de Bio-Rad.

## **5. Preparación de extractos para evaluación biológica**

Se realizaron extractos siguiendo la metodología descrita por Milán-Noris y col. (2018) con algunas modificaciones. Se suspendieron 50 mg de las muestras en 1 mL de solución fosfato monobásico a pH 8, se sonicaron durante 10 minutos a temperatura ambiente y se centrifugaron a 4° C, 3 000 xg durante 10 minutos. El sobrenadante se recolectó y se repitió el mismo procedimiento con la pastilla restante. Posteriormente, el sobrenadante se secó en un concentrador y se almacenó a -4° C.

## **6. Contenido de compuestos fenólicos totales**

El contenido total de fenólicos (CFT) de los extractos se determinó utilizando el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton y col. (1999). Esta prueba consiste en mezclar ácido fosfotúngstico y ácido fosfomolibdico que se reduce, por la acción de los fenoles, en una mezcla de óxidos azules de tungsteno en un medio altamente básico (carbonato de sodio). Los compuestos fenólicos son fácilmente oxidables en medio básico, formando O<sub>2</sub>, los productos de oxidación reaccionan con el molibdato formando óxido de molibdeno, este compuesto puede ser identificado y cuantificado por espectroscopia de UV/visible debido a que absorbe a una longitud de 740 nm. Inicialmente, se dispusieron 100 µL de la curva o muestra en un microtubo de 2 mL, al cual se le añadieron 50 µL del reactivo Folin-Ciocalteu 2N. Tras transcurrir 5 min, se incorporaron 400 µL de carbonato de sodio 2N (aforado con 10.6 g/100 ml de agua destilada), y después de otros 5 minutos, se adicionó 1 mL de agua destilada. Las muestras fueron incubadas en los microtubos en oscuridad a temperatura ambiente durante 90 minutos. Luego, se realizó una centrifugación a 3000 xg durante 1 min a 4° C. Posteriormente, se transfirieron por triplicado 200 µL del contenido de cada microtubo a los respectivos pocillos de una placa de 96 pozos. Finalmente, se registró la

absorbancia a 740 nm utilizando un espectrofotómetro. La cuantificación se llevó a cabo utilizando una curva de ácido gálico y los resultados de CFT se expresaron en miligramos equivalentes de ácido gálico (Mariscal-Moreno y col.) por gramo de muestra.

### **7. Contenido de proteína soluble y péptidos**

La cuantificación de proteína soluble se llevó a cabo por duplicado utilizando el ensayo de proteína compatible con detergente (Thermo Fisher Scientific, P/N 23246). Se utilizó albúmina de suero bovino como estándar en un rango de concentración de 0.1 a 1 mg/mL. Los resultados se expresarán como mg/g de muestra liofilizada. La cuantificación de péptidos en cada subfracción se realizó mediante un ensayo colorimétrico utilizando el kit de ensayo de péptidos colorimétricos cuantitativos (Thermo Fisher Scientific, P/N 23275) de acuerdo con el protocolo del fabricante.

### **8. Cuantificación de isoflavonas**

La cuantificación de isoflavonas en muestras de garbanzo se efectuó conforme al protocolo descrito por Milán-Noris y col. (2018), mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC-DAD) con detección de diodos (Agilent LC 1260). La separación se logró utilizando una columna Eclipse XDB C18 (3 mm × 150 mm, 3,5 µm; Agilent technologies, Santa Clara, CA, EE. UU.) con un caudal de 0.4 mL/min y una temperatura de columna de 30 °C. La inyectó un volumen de 2 µL y la detección se registró a 260 nm. La fase móvil consistió en una solución 0.1% de ácido fórmico en agua (disolvente A) y acetonitrilo (disolvente B). El perfil de gradiente se estableció de la siguiente manera: 0 %–10 % de solvente B durante 8 min, 10 %–35 % de solvente B durante 8 min, 35 %–90 % de solvente B durante 10 min y 90 %–100 % de solvente B durante 10 min. Las isoflavonas se cuantificaron utilizando estándares de biochanina-A y formononetina para las agliconas o sus conjugados,

expresando los resultados como  $\mu\text{g/g}$  de muestra liofilizada. La concentración de otros isoflavonoides se calculó como equivalentes de biocanina-A ( $\mu\text{g/g}$  de muestra liofilizada). Los análisis se realizaron por triplicado.

## **9. Permeabilidad celular Caco-2**

Se emplearon monocapas de células de colón humano (Caco-2) para evaluar la permeabilidad celular *in vitro* de los digeridos de concentrado proteico y harinas germinadas selenizadas de garbanzo desi verde y negro. Las células Caco-2 fueron cultivadas a  $37^{\circ}\text{C}$  y 5% de  $\text{CO}_2$  en medio DMEM suplementado con suero bovino fetal al 5% (v/v) y antibiótico-antimicótico al 1%. El medio se renovó cada 2 días durante el crecimiento y la diferenciación celular. Para los experimentos, se siguió la metodología descrita por Ortega-Hernández (2022) las células se sembraron en inserciones transwell de 12 pocillos a una densidad de  $2.5 \times 10^5$  células/pocillo. Las monocapas se utilizaron 21 días después de alcanzar la confluencia para permitir la diferenciación completa en células epiteliales intestinales. Después de lavar las células dos veces con PBS, se añadió una alícuota de 0.5 mL de fracciones digeridas intestinalmente de concentrado proteico y harinas germinadas de garbanzo desi verde y negro con y sin selenio ( $50 \mu\text{g/mL}$ ) con un contenido de lucifer yellow (LY)  $100 \mu\text{M}$  en la cámara superior (apical). Las células se incubaron a  $37^{\circ}\text{C}$  durante 2 horas a 100 rpm. Después de eso, se recolectó el medio de ambos lados de los insertos y se almacenó a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta el análisis de isoflavonas mediante HPLC-DAD (Agilent LC 1260).

La integridad de monocapa celular se evaluó controlando la permeación de lucifer yellow. La fluorescencia de las muestras apicales y basolaterales se midió a 530 nm (emisión) y 485 nm (excitación) utilizando un lector de microplacas (synergy HT, BioTek, Winooski,

VM). La permeación de LY de la cámara apical a la basal (%) se calculó de acuerdo con la ecuación 7:

$$LY (\%) = \frac{F_{\text{test}} - F_{\text{blank}}}{F_0 - F_{\text{blank}}} \quad \text{Ec. (7)}$$

Donde,  $F_{\text{test}}$  es la intensidad de fluorescencia de LY desde el lado basolateral;  $F_0$ , la intensidad de fluorescencia inicial de LY en el lado apical,  $F_{\text{blank}}$  es la intensidad de fluorescencia de la muestra en blanco (HBSS solo). Solo se consideraron aquellas monocapas con una permeabilidad inferior al 5% para su inclusión en el experimento.

Además, se evaluó la eficacia de la permeación in vitro en la muestra (Ec.8), proporcionando datos sobre la persistencia de la actividad biológica después de realizar la permeación. Dando información sobre cuanta actividad ha sido retenida después del permeado.

Ec. (8)

$$\text{Actividad remanente (\%)} = \left( \frac{\text{Actividad después de la permeación}}{\text{Actividad inicial}} \right) \times 100$$

Donde la “Actividad después de la permeación” es la actividad medida después del proceso de permeado celular y la “Actividad inicial” es la actividad medida antes de permear.

### **10. Ensayo de viabilidad celular RAW 264.7**

La viabilidad celular se determinó utilizando el ensayo de proliferación celular CellTiter 96 AQueous One Solution. La línea celular de macrófagos murinos RAW 264.7 se incubó en medio Eagle Modificado con Dubelcco (DMEM) suplementado con suero bovino fetal (FBS) al 5% y una mezcla comercial de estreptomicina/penicilina al 1%, a 37°C con CO<sub>2</sub> al 5% durante 24 hrs en placa de 96 pocillos, con una densidad de 5×10<sup>4</sup> células/pocillo. Posteriormente, se trataron con una concentración de 50 µg/mL. La absorbancia se determinó

a 490 nm utilizando un lector de microplacas (Synergy HT, Bio-Tek). La viabilidad celular se calculó dividiendo la absorbancia de las células tratadas entre la absorbancia de las células de control, y la proporción se expresó como porcentaje.

### **11. Actividad anti-inflamatoria**

Para evaluar el efecto del concentrado de proteína y harinas germinadas de garbanzo desi verde y negro con selenio y sin selenio, en la producción de óxido nítrico (NO). Se cultivaron células RAW 264.7 en placas de 96 pocillos ( $5 \times 10^4$  células/pocillo) con medio Eagle's Modificado con Dulbeccó (DMEM) suplementado con suero bovino fetal (FBS) al 5% y 1% de la mezcla comercial de estreptomycin y penicilina durante 24 h a 37°C con CO<sub>2</sub> al 5%. Posteriormente, se añadieron 50 µL de muestra y se incubaron durante 4 horas adicionales. La mitad de los pocillos se estimularon con 1 µg/mL de LPS, mientras que la otra mitad sirvió como control para cada muestra. Después de 24 horas, se evaluó la viabilidad celular y la producción de NO.

La producción de NO se evaluó indirectamente mediante la cuantificación de nitritos. Después de la incubación de las muestras, se transfirieron 100 µL de sobrenadante a otra placa de 96 pocillos para determinar la concentración de nitritos utilizando el sistema de reactivos de Griess, con una lectura de absorbancia a 590nm. Los resultados se expresaron como el porcentaje de inhibición de la producción de NO en comparación con las células de control (no estimuladas con LPS). La absorbancia se registró utilizando un el lector de microplacas de 96 pocillos (Synergy HT, Bio-Tek).

### **12. Actividad antioxidante celular**

La determinación de la actividad antioxidante celular (Isaacson y col.) se llevó a cabo según la metodología descrita por López-Barrios y col. (2018). Las células Caco-2 se

sembraron en una placa negra de 96 pocillos (100  $\mu$ L,  $5 \times 10^4$  células/pocillo) en medio Eagle's Modificado por Dulbeccó (DMEM) suplementado con suero bovino fetal al 5% y 1% antibiótico comercial de penicilina-estreptomina. Los digeridos se probaron a una dilución apropiada. Después de 24 h de incubación (37 °C, 5 % CO<sub>2</sub>), las células se lavaron con solución tampón de fosfato (PBS) y se incubaron durante 20 min con 100  $\mu$ L de muestra y 60  $\mu$ M de diacetato de dicloro-dihidro-fluoresceína (DCFH-DA) (1:1 v/v). Luego, se añadió 100  $\mu$ L de diclorhidrato de 2,2'-azobis(2-metilpropionamida) (AAPH) (500  $\mu$ M) después de un nuevo lavado para inducir el estrés oxidativo. La fluorescencia emitida a 528 nm con excitación a 485 nm se midió cada 2 min durante 45 min a 37 °C. Las células incubadas con DCFH-DA (sin hidrolizados) e inducidas con AAPH representan el control positivo. La AAC se calculó como un porcentaje utilizando la siguiente ecuación:

Ec. (9)

$$\%AAC = 100 - \left( \frac{\text{AUC Hidrolizados}}{\text{AUC Control positivo}} \right) \times 100$$

## F. ANALISIS ESTADISTICO

El análisis estadístico se llevó a cabo mediante el software JMP 14 del instituto SAS (Cary, NC, EE. UU.). Los datos se analizaron por regresión lineal de mínimos cuadrados ordinarios para estimar el efecto de la variedad de garbanzo, contenido de selenio y el procesamiento de la muestra con un nivel de significancia de 95%. Algunas variables dependientes se analizaron por Anova de una vía seguida de la prueba de Tukey para determinar el efecto de la variedad de garbanzo o el procesamiento de la muestra.

## VIII. RESULTADOS Y DISCUSIONES

### Objetivo 1

#### A. Propiedades fisicoquímicas

##### 1. Contenido proteico

El Cuadro 2 detalla el contenido de proteína (%) en harinas y concentrados (bs) de garbanzo desi verde y negro germinado con o sin selenito de sodio y rendimiento (%) de los concentrados proteicos. Las harinas de garbanzos germinados (control y selenizadas) en ambas variedades exhibieron un contenido proteico del 22.1%, sin diferencias significativas ( $p>0.05$ ). En una investigación realizada por Huang y col. (2022c) los contenidos de proteínas de soya germinada no difirieron entre los tratamientos que incluían selenio y el grupo control. Estudios sobre germinados de garbanzo en condiciones similares han reportado intervalos de 23.5-24.9% en cultivares desi y 21-24% en cultivares kabuli (Cimini y col., 2023; Domínguez-Arispuro y col., 2018; Masood y col., 2014; Ouazib y col., 2015; Sofi y col., 2023; Sofi y col., 2021; Xu y col., 2019b).

En los concentrados proteicos de garbanzos desi germinados (con / sin selenio) verde y negro, no hubo diferencias significativas ( $p>0.05$ ) en el contenido proteico (88.4-97.5%), sugiriendo que la adición de selenio no influyó en la extracción de proteína. Resultados similares se han reportado en concentrados de garbanzo mediante precipitación isoelectrica (Espinosa-Ramírez y col., 2019; Mesfin y col., 2021; Sánchez-Vioque y col., 1999; Sofi y col., 2021; Toews y col., 2013).

Adicionalmente, el rendimiento de proteína fue significativamente mayor ( $p<0.05$ ) en garbanzo verde (61-65%) en comparación con el garbanzo negro (38-49%). Se han documentado rendimientos de extracción de proteína del 53.7% en garbanzo desi (Boye y col.,

**Cuadro 2.** Contenido de proteína (%) en harinas y concentrados (bs) de garbanzo desi verde y negro germinado con o sin selenito de sodio y rendimiento (%) de los concentrados proteicos.

Muestra	Harinas	Concentrados		
	Proteína (%)	Proteína (%) (Pureza)	Rendimiento (%)	Recuperación (%)
VC	22.1±0.0 <sup>a</sup>	97.5±8.7 <sup>a</sup>	66.1±6.4 <sup>a</sup>	67.8±6.5 <sup>a</sup>
VSe	22.1±0.0 <sup>a</sup>	95.7±5.1 <sup>a</sup>	62.2±2.2 <sup>a</sup>	65.0±2.3 <sup>a</sup>
NC	22.1±0.0 <sup>a</sup>	91.4±5.1 <sup>a</sup>	38.8±2.0 <sup>c</sup>	42.5±2.2 <sup>c</sup>
NSe	22.1±0.0 <sup>a</sup>	88.4±0.0 <sup>a</sup>	49.5±2.6 <sup>b</sup>	56.0±2.9 <sup>b</sup>

VC. Garbanzo verde germinado control. VSe. Garbanzo verde germinado selenizado. NC. Garbanzo negro germinado control. NSe. Garbanzo negro germinado selenizado. Los valores representan las medias ± desviación estándar. Medias con letras diferentes por columna indican diferencia significativa ( $p < 0.005$ ).

2010a) y del 67.3% en garbanzo kabuli (Espinosa-Ramírez y col., 2019) mediante extracción alcalino-ácida.

Respecto a la recuperación de proteínas, la variedad verde demostró un rendimiento superior a la variedad negra, fluctuando entre el 67.8% y el 42.5%. Estudios anteriores utilizando la extracción por precipitación isoelectrica informaron recuperaciones de proteínas en garbanzos en un rango de 54.6% a 67% (Boukid, 2021; Papalamprou y col., 2009; Penchalaraju y col., 2022). La diversidad de propiedades bioquímicas en las proteínas (carga, tamaño, susceptibilidad a la proteólisis, interacciones de ligandos y localización subcelular) impide que cualquier método de extracción capture completamente el proteoma (Isaacson y col., 2006).

## **2. Contenido y acumulación de selenio**

El Cuadro 3 presenta los niveles de selenio en concentrados y harinas de garbanzo desi germinado. Las harinas de garbanzo germinado verde (HVC) y negro (HNC) fueron estadísticamente diferentes en su contenido de selenio, sin embargo, como no se analizaron las muestras sin procesar no sabemos si el contenido de la muestra es inherente a la variedad o por el proceso de germinación. El proceso de germinación en presencia de selenito de sodio satisfactoriamente incrementó el Se en las harinas donde se acumularon un 34.6% en la harina negra selenizada (HNSe) y la harina verde selenizada (HVSe) acumuló un 29.4%. En contraste, en un estudio previo realizado por Serrano-Sandoval y col. (2022) llevaron a cabo la germinación de garbanzos kabuli bajo una concentración y condiciones similares a las del presente estudio, obteniendo una acumulación del 10%. Esto sugiere que las harinas de garbanzo de la variedad desi tienen una mayor capacidad de acumular selenio durante la selenización en comparación con la variedad kabuli.

**Cuadro 3.** Contenido de selenio ( $\mu\text{g/g}$ ) en harinas y concentrados de variedades de garbanzo desi germinado o selenizado.

	Variedad	
	Negra	Verde
Harina germinada	$0.29 \pm 0.00^{\text{B}_c}$	$1.23 \pm 0.01^{\text{A}_c}$
Harina selenizada	$23.73 \pm 0.23^{\text{A}_b}$ (34.64%)	$20.15 \pm 1.26^{\text{A}_b}$ (29.42%)
Concentrado selenizado	$36.89 \pm 1.30^{\text{A}_a}$ (55.48%)	$35.00 \pm 0.36^{\text{A}_a}$ (74.00%)

Los valores representan las medias  $\pm$  desviación estándar (%acumulación). Medias con letras diferentes por columna (minúscula subíndice) indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) por el tratamiento y medias con letras diferentes por renglón (mayúscula superíndice) indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) por cultivo de garbanzo.

En relación con los concentrados selenizados, no hubo diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre ambos cultivares desi, y aunque no se ha reportado información sobre el contenido y la acumulación de selenio en concentrados proteicos obtenidos de garbanzos desi germinados-selenizados, un estudio en garbanzo kabuli reveló un aumento de 151.4 veces en el contenido de selenio en el extracto proteico de harina germinada con 96 mg Se/L durante 48 horas en comparación con el grupo control (Hernández-Grijalva y col., 2022). Sugiriendo la importancia de considerar factores específicos como la variedad y condiciones de tratamiento al explorar el enriquecimiento de selenio en concentrados proteicos de garbanzos germinados. En acuerdo con Kieliszek (2019), nuestros resultados indican que los alimentos ricos en proteínas contienen niveles más altos de selenio. Debido a la unión de selenio a las proteínas (Prasad y col., 2022).

### **3. Actividad de agua**

La actividad de agua ( $a_w$ ), indica la disponibilidad de agua en un producto. En el cuadro 4 se especifican los valores  $a_w$  en harinas y concentrados de garbanzos con y sin selenio. Los valores obtenidos (0.28-0.35) concuerdan con lo anteriormente descrito en harinas (Xu y col., 2019b) y concentrados/aislados proteicos (Ramani y col., 2021) de garbanzo. La variedad de garbanzo ( $p < 0.0001$ ), el contenido de selenio ( $p < 0.0001$ ) y el tratamiento ( $p < 0.0001$ ) tuvieron un efecto significativo sobre los valores de  $a_w$ . La variabilidad de contenido de  $a_w$  entre variedades y procesamientos en garbanzos influye en la calidad y seguridad alimentaria.

### **4. pH**

Los niveles de pH en harinas y concentrados de garbanzo germinado y germinado-selenizado se presentan en el Cuadro 4. La variedad de garbanzo ( $p < 0.0001$ ), el contenido de

**Cuadro 4.** Caracterización fisicoquímica de harinas y concentrados proteicos de variedades de garbanzo desi germinado o selenizado.

		$a_w$		pH		$\Delta E$	
		Negra	Verde	Negra	Verde	Negra	Verde
Harina	Germinada	0.34±0.00 <sup>B<sub>a</sub></sup>	0.35±0.00 <sup>A<sub>a</sub></sup>	6.25±0.06 <sup>A<sub>a</sub></sup>	6.23±0.05 <sup>A<sub>b</sub></sup>	20.97±0.27 <sup>B<sub>d</sub></sup>	25.92±0.62 <sup>A<sub>c</sub></sup>
	Selenizada	0.31±0.00 <sup>A<sub>b</sub></sup>	0.31±0.00 <sup>A<sub>b</sub></sup>	6.30±0.00 <sup>A<sub>a</sub></sup>	6.40±0.00 <sup>A<sub>a</sub></sup>	22.53±0.34 <sup>B<sub>c</sub></sup>	25.99±0.61 <sup>A<sub>c</sub></sup>
Concentrado	Germinado	0.28±0.00 <sup>B<sub>c</sub></sup>	0.35±0.00 <sup>A<sub>a</sub></sup>	3.98±0.05 <sup>B<sub>b</sub></sup>	4.25±0.06 <sup>A<sub>c</sub></sup>	69.22±0.27 <sup>A<sub>a</sub></sup>	58.31±0.19 <sup>B<sub>a</sub></sup>
	Selenizado	0.29±0.00 <sup>A<sub>c</sub></sup>	0.29±0.00 <sup>A<sub>c</sub></sup>	3.95±0.06 <sup>B<sub>b</sub></sup>	4.28±0.05 <sup>A<sub>c</sub></sup>	63.67±0.11 <sup>A<sub>b</sub></sup>	55.32±0.80 <sup>B<sub>b</sub></sup>

$a_w$ . Actividad de agua.  $\Delta E$ . Diferencia de color. Los valores representan medias  $\pm$  desviación estándar. Medias con letras diferentes por columna (minúscula subíndice) indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) por el tratamiento y medias con letras diferentes por renglón (mayúscula superíndice) indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) por cultivo de garbanzo.

selenio ( $p < 0.0023$ ) y el tratamiento ( $p < 0.0001$ ) tuvieron un efecto significativo sobre los valores de pH.

En las harinas de garbanzo tuvieron un pH con rango de 6.25 a 6.40, indicando un ambiente ligeramente alcalino o neutro. Estos resultados concuerdan con investigaciones previas sobre harinas de garbanzo que reportaron valores de pH de 6.39-6.43 (Ettoumi y col., 2015; Jagannadham y col., 2014; Maray, 2023). Tras la selenización, se observó un aumento en el pH de las harinas de la variedad verde.

En contraste, los concentrados de proteína de garbanzo exhibieron niveles de pH más bajos, entre 3.95 y 4.28, evidenciando un ambiente más ácido. Estas diferencias se atribuyen al punto isoeléctrico (pH 4 -5) de las proteínas vegetales (Singh y col., 2005). Donde a pH bajos, se generan grandes cargas netas que incrementan las fuerzas repulsivas, conduciendo al desarrollo de proteínas (Gao y col., 2010). Además, se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en los valores de pH entre las variedades de garbanzo de los concentrados de proteína, siendo más altos en la variedad verde, posiblemente debido a las variaciones en la composición química de los granos.

## **5. Diferencia de color**

La diferencia de color ( $\Delta E$ ) es una característica deseable en productos alimenticios para preservar su atractivo visual a través del tiempo. La variedad de garbanzo ( $p < 0.0001$ ), el contenido de selenio ( $p < 0.0001$ ) y el tratamiento ( $p < 0.0001$ ) tuvieron un efecto significativo sobre los valores de  $\Delta E$ .

Los valores de  $\Delta E$  en harinas germinadas fluctuaron entre 20.97 y 25.92. Anteriormente, se ha reportado en germinados de garbanzo de la variedad negra y verde un  $\Delta E$  de 21.58 y 18.79 (Kumar y col., 2020a; Kumar y col., 2020b), respectivamente. Es relevante

señalar que este parámetro se evaluó utilizando una referencia de color blanco, lo que permite comparar las diferencias como si se tratara de una harina de trigo refinada. En las harinas, se encontró que no hubo diferencia estadísticamente significativa entre las harinas germinadas y selenizadas de la variedad verde. Sin embargo, en las harinas de la variedad negra, se observó un mayor  $\Delta E$  en la harina selenizada que su contraparte germinada. Este hallazgo indica que la selenización podría tener un efecto más marcado en la tonalidad de la harina de garbanzo negro en comparación con la variedad verde.

En cuanto a los concentrados, los valores de  $\Delta E$  variaron de 55 a 69, por lo que por el proceso de concentración de proteína (tratamiento) se obtiene un ingrediente más oscuro que una harina. Kaur y col. (2005) reportaron un  $\Delta E$  de 64.18- 66.94 en cultivares de garbanzos desi germinados. Se observó que la selenización podría estar contribuyendo a la reducción de  $\Delta E$  en los concentrados. También es importante destacar que, en ambas harinas, tanto germinadas como selenizadas, la variedad negra presentó un menor  $\Delta E$  que la variedad verde. Por el contrario, en los concentrados germinados y selenizados se observó un menor  $\Delta E$  que la variedad negra. Estas diferencias resaltan la influencia combinada de variedad de garbanzo y el proceso de selenización en la apariencia final de las harinas y concentrados de proteína de garbanzos germinados, lo cual puede tener implicaciones en su aceptación sensorial y aplicaciones alimentarias. Aunque otros autores han abordado las diferencias de color en concentrados/aislados de proteína de garbanzo desi, las variaciones en nuestros resultados y los de otros investigadores como Gao y col. (2010); Kaur y col. (2007); Paredes-López y col. (1991) pueden atribuirse a las diferencias en las variedades de garbanzo desi y los métodos de extracción empleados en cada estudio.

## **B. Propiedades tecnofuncionales**

Los resultados de las propiedades tecnofuncionales de las harinas y concentrados de proteínas de garbanzo germinado- selenizado se encuentran detalladas en el cuadro 5.

### **1. Índice de solubilidad en agua**

El índice de solubilidad de agua (ISA) es un indicador importante, puesto que refleja la capacidad de un polvo para disolverse en agua (Vidović y col., 2014). La variedad de garbanzo ( $p=0.0003$ ), el contenido de selenio ( $p=0.0034$ ) y el tratamiento ( $p<0.0001$ ) tuvieron un efecto significativo sobre los valores de ISA.

Las harinas presentaron valores de ISA de 20.4 a 26.2 los cuales fueron significativamente más elevados que los concentrados de proteína de ambas variedades. La variación de los valores puede deberse a las características intrínsecas de la materia prima. Previamente se ha documentado en harina de garbanzos germinados un ISA de 25.47% (Sofi y col., 2020) y un 28.02% en harina de soya germinada (Sakare y col., 2020).

Los concentrados de proteína oscilaron entre 4.98 y 5.39%. Otros autores analizaron la solubilidad en concentrados de proteínas de diversas legumbres a pH diferentes (1 al 12), se observó que la solubilidad más elevada se encuentra en el rango de pH 1 y 3, así como entre 7 y 12, para todos los concentrados. En contraste, la solubilidad fue notablemente baja en la mayoría de los concentrados a pH 4, 5 y 6, variando entre un 2 a 30% (Boye y col., 2010a; Sofi y col., 2021; Xu y col., 2021). Estos hallazgos concuerdan con la presente investigación. La solubilidad de las proteínas está condicionada por la composición de las fracciones proteicas y la desnaturalización de proteínas en los aislados. Una elevada solubilidad sugiere la presencia de proteínas en su estado nativo, y una mínima desnaturalización (Ghribi y col., 2015).

**Cuadro 5.** Propiedades tecnofuncionales de harinas y concentrados proteicos de variedades de garbanzo desi germinado-selenizado.

		ISA (%)		IAA (g/g)		IAAc (g/g)	
		Negra	Verde	Negra	Verde	Negra	Verde
Harina	Germinada	20.40±0.00 <sup>B<sub>b</sub></sup>	25.00±0.85 <sup>A<sub>a</sub></sup>	3.91±0.35 <sup>A<sub>a</sub></sup>	3.61±0.33 <sup>A<sub>a</sub></sup>	1.61±0.07 <sup>A<sub>a</sub></sup>	1.62±0.07 <sup>A<sub>a</sub></sup>
	Selenizada	23.60±1.13 <sup>A<sub>a</sub></sup>	26.20±0.85 <sup>A<sub>a</sub></sup>	3.30±0.03 <sup>A<sub>a</sub></sup>	2.48±0.07 <sup>A<sub>b</sub></sup>	1.68±0.10 <sup>A<sub>a</sub></sup>	1.62±0.14 <sup>A<sub>a</sub></sup>
Concentrado	Germinado	5.19±0.01 <sup>A<sub>c</sub></sup>	4.99±0.30 <sup>A<sub>b</sub></sup>	2.13±0.05 <sup>A<sub>b</sub></sup>	2.32±0.17 <sup>A<sub>b</sub></sup>	1.69±0.11 <sup>A<sub>a</sub></sup>	1.71±0.17 <sup>A<sub>a</sub></sup>
	Selenizado	4.98±0.28 <sup>A<sub>c</sub></sup>	5.39±0.27 <sup>A<sub>b</sub></sup>	2.27±0.07 <sup>A<sub>b</sub></sup>	2.07±0.10 <sup>A<sub>b</sub></sup>	1.72±0.15 <sup>A<sub>a</sub></sup>	1.51±0.13 <sup>A<sub>a</sub></sup>

ISA. Índice de solubilidad de agua. IAA. Índice de absorción de agua. IAAc. Índice de absorción de aceite. Los valores representan medias ± desviación estándar. Medias con letras diferentes por columna (minúscula subíndice) indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) por el tratamiento y medias con letras diferentes por renglón (mayúscula superíndice) indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) por cultivo de garbanzo.

## 2. Índice de absorción de agua y aceite

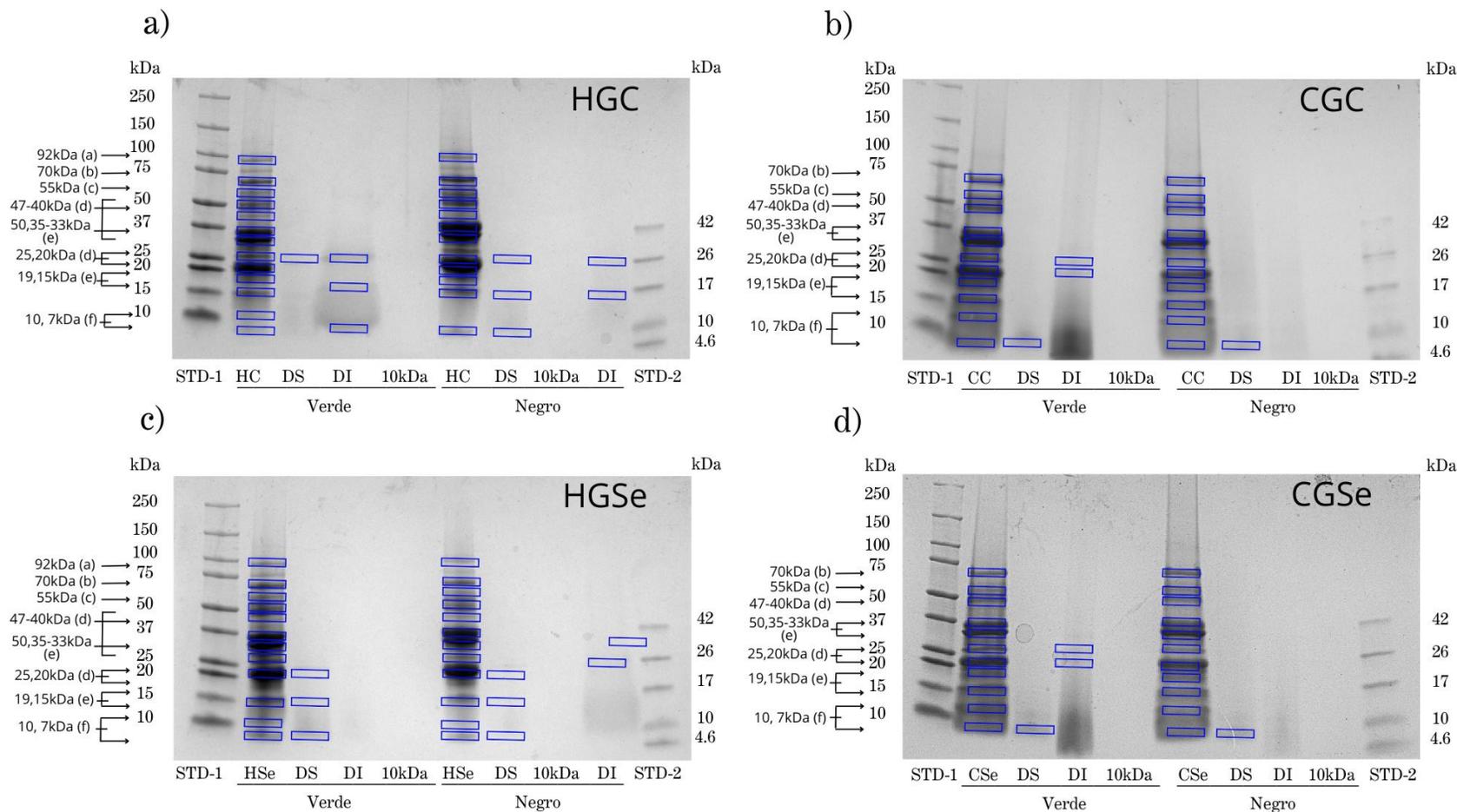
El índice de Absorción de Agua (IAA) refleja la capacidad de absorción de agua durante procesos de hidratación (Cuadro 5). Está vinculado a la hidrofiliidad y su capacidad para formar geles de macromoléculas como almidón y proteínas (Du y col., 2014). El contenido de selenio ( $p=0.0069$ ) y el tratamiento ( $p<0.0001$ ) tuvieron un efecto significativo sobre los valores de ISA mientras que la variedad de garbanzo no mostró un efecto significativo sobre este parámetro. Los valores de IAA en las harinas oscilaron entre 2.5 y 3.9 g/g, lo cual concuerda con investigaciones previas que reportaron valores entre 0.76 a 3.75 g/g en harinas de garbanzos germinados (Desalegn, 2015; Kumar y col., 2020a; Kumar y col., 2020b; Ouazib y col., 2015; Sofi y col., 2020). Los concentrados de proteína presentaron valores alrededor de 2 g/g, otros investigadores reportan en concentrados/aislados de proteína con un contenido de 1.89 g/g, (Mesfin y col., 2021) y 4.82 g/g (Sofi y col., 2021).

El índice de absorción de aceite (IAAc) mide la capacidad del ingrediente para absorber o retener grasas o aceite al unirse a cadenas laterales no polares de almidón o proteínas (Sathe y col., 1982). Los resultados de harinas y concentrados no tuvieron diferencias significativas ( $p<0.005$ ) en ninguna de las variables evaluadas. Las harinas fluctuaron entre 1.61 y 1.68 g/g, concordando con otros autores que han reportado valores entre 0.82 y 3.86 g/g en harinas de garbanzos germinados (Desalegn, 2015; Kumar y col., 2020a; Kumar y col., 2020b; Ouazib y col., 2015; Sofi y col., 2020). Por otra parte, se obtuvieron valores de 1.51 a 1.72 en concentrados de proteínas de garbanzos germinados. En estudios previos, se ha reportado un IAAc de 1.72 g/g (Mesfin y col., 2021) y 5.58 g/g (Sofi y col., 2021) en concentrados/aislados de garbanzos germinados.

**C. Evaluación nutraceútica****1. Perfil de proteínas**

En la Figura 1, se muestra el perfil de proteína de las harinas y concentrados proteicos de garbanzo desi germinado y selenizado. Se observaron perfiles muy similares entre las muestras. En las harinas (Figura 1a y b) se observaron bandas de proteínas con tamaños que variaron entre 4.6 y 100 kDa. En cuanto a los concentrados (Figura 1c y d), se detectaron bandas entre 10 y 75 kDa, además de una mayor intensidad en las bandas de bajo peso molecular. Las proteínas identificadas en las harinas y concentrados proteicos de garbanzo desi germinado y selenizado, fueron la lipoxigenasa (92-93 kDa), convicilina (68-72 kDa), glutelina (55 kDa), subunidades de vicilina (48-50, 34-37, 30, 28-25 kDa), subunidades de legumina (40-44 y 20 kDa) y subunidades de lectina (<20 kDa). Los resultados coinciden con los descritos en la literatura por (Chang y col., 2012; Milán-Noris y col., 2018; Serrano-Sandoval y col., 2019; Sofi y col., 2023). En una investigación realizada por Serrano-Sandoval y col. (2019) demuestra que el Se retarda la proteólisis durante la germinación de garbanzo (30-37 kDa), lo que indica un efecto inhibitorio en la activación de enzimas proteolíticas. Sin embargo, no se observó en nuestras muestras.

En la mayoría de los casos, la variedad verde presenta mayor intensidad de las bandas, excepto en el caso específico de HC en la figura 1a. Esta variación en la intensidad de las bandas entre las variedades sugiere que cada una responde de manera distinta durante la germinación, lo cual podría deberse a la composición química o estructural diferente en sus proteínas, lo que podría influir en la interacción con el selenio. La disminución de la intensidad de las bandas de mayor peso molecular y el aumento de las bandas de menor peso molecular podrían indicar cambios en la estructura de las proteínas debido a la germinación-



**Figura 1.** Perfil de proteínas de harinas (H) (a,c) y concentrados (C) (b,d) de garbanzos germinados desi control (C) y selenizados (Se) (50mg Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>/L agua de remojo), durante 48 h a nivel industrial. STD-1, estándar de peso molecular (250-10 kDa). Y STD-2, estándar de bajo peso molecular (42-1.7 kDa). DS, Digerido soluble. DI, Digerido Insoluble. 10kDa, Fracción peptídica insoluble <10kDa. HGSe, Harina germinada-selenizada. CGSe, Concentrado germinado-Selenizado. HGC, Harina germinada control. CGC, Concentrado germinado control. (a) Lipoxigenasa, (b) Convicilina, (c) Glutelina, (d) Sub. Legumina (e) Sub. Vicilina y (f) Sub. Lectina.

selenización. Estos cambios podrían estar relacionados con la formación de complejos proteicos de menor tamaño o fragmentación de proteínas más grandes.

La simulación de digestión gastrointestinal (SDG) tuvo un fuerte impacto en la intensidad de las bandas, indicando que la mayoría de las proteínas se hidrolizaron, demostrando la eficacia de escisión enzimática en las proteínas de garbanzo desi germinado y selenizado en péptidos. En las harinas se encontraron péptidos de peso molecular entre 6-25 kDa (Figura 1a y c). Mientras que en los digeridos insolubles de los concentrados proteicos se observaron péptidos menores a 4.6 kDa (Figura 1b y d). En otro estudio se ha observado que la SDG en lentejas germinadas afecta la intensidad de las bandas (Di Stefano y col., 2019). En un estudio realizado por Milán-Noris y col. (2018), reportaron polipéptidos de entre 3.5 y 10 kDa en digeridos insolubles de concentrados de garbanzos desi germinados, los cuales fueron filtrados por membrana <10 kDa. De igual manera, Boye y col. (2010b) detectaron péptidos con pesos moleculares de 4, 6, 15 y 20 en digeridos de proteína de lenteja.

Todas las bandas de las muestras de fracciones peptídicas insolubles 10kDa no fueron visibles, lo que indica que las proteínas presentes en las muestras son de peso molecular más bajo que el límite de detección, por la degradación a fragmentos pequeños durante el proceso de digestión o filtración, por lo tanto, no se retuvieron o bien fueron degradadas. La SDG de proteínas de legumbres germinadas resulta en el aumento de oligopéptidos con un peso molecular inferior a 10 kDa (González-Montoya y col., 2018).

## **2. Contenido de fenólicos totales**

El contenido de fenólicos totales (CFT) en harinas y concentrados de garbanzo germinado con y sin selenito de sodio se observa en el Cuadro 6. Las harinas presentaron valores de 1.14 a 1.51 mgGAE/g, similar a lo previamente (0.24-3.1 mgGAE/g) reportado en

**Cuadro 6.** Contenido de fenólicos totales (mgGAE/g) en harinas y concentrados proteicos de variedades de garbanzo desi germinado-selenizado.

		Sin digerir		Digerido soluble		Digerido insoluble		IB (%)		IR (%)	
		Negra	Verde	Negra	Verde	Negra	Verde	Negra	Verde	Negra	Verde
Harina	Germinada	1.51±0.02 <sup>a</sup>	1.29±0.01 <sup>b</sup>	5.88±0.12 <sup>a,b</sup>	5.62±0.18 <sup>a,b</sup>	3.05±0.04 <sup>a</sup>	3.04±0.05 <sup>a</sup>	65.84±0.75 <sup>a</sup>	64.94±0.99 <sup>a</sup>	592.51±13.65 <sup>b</sup>	670.97±12.20 <sup>a</sup>
	Selenizada	1.37±0.06 <sup>a</sup>	1.14±0.02 <sup>b</sup>	6.05±0.17 <sup>a</sup>	5.98±0.18 <sup>a,b</sup>	2.88±0.01 <sup>b</sup>	4.78±0.13 <sup>b</sup>	67.72±0.67 <sup>a</sup>	55.58±0.44 <sup>b</sup>	653.34±38.90 <sup>b</sup>	943.57±39.32 <sup>a</sup>
Concentrado	Germinado	1.89±0.02 <sup>a</sup>	2.14±0.03 <sup>a</sup>	5.61±0.03 <sup>b</sup>	6.02±0.13 <sup>a</sup>	5.82±0.16 <sup>a</sup>	5.83±0.01 <sup>a</sup>	47.68±1.02 <sup>a</sup>	49.77±1.06 <sup>a</sup>	621.68±17.75 <sup>a</sup>	564.19±12.48 <sup>b</sup>
	Selenizado	1.18±0.02 <sup>a</sup>	1.37±0.02 <sup>a</sup>	5.35±0.10 <sup>a</sup>	5.33±0.09 <sup>a</sup>	6.16±0.23 <sup>a</sup>	6.08±0.15 <sup>a</sup>	47.90±0.21 <sup>a</sup>	47.75±0.45 <sup>a</sup>	944.61±36.47 <sup>a</sup>	812.91±14.56 <sup>b</sup>

IB. Índice de bioaccesibilidad. IR. Índice de recuperación. GAE. Equivalentes de ácido gálico. Los valores representan las medias ± la desviación estándar. Medias con letras diferentes por columna (minúscula subíndice) indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) por el tratamiento y medias con letras diferentes por renglón (mayúscula superíndice) indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) por cultivo de garbanzo.

germinados de garbanzo (Domínguez-Arispuro y col., 2018; Milán-Noris y col., 2018; Sofi y col., 2023; Wu y col., 2012). Los concentrados sin digerir presentaron un CFT que varió de 1.18 a 2.14 mg/g valores más altos de CFT se han reportado en concentrados de garbanzo desi (Milán-Noris y col., 2018). Salvo en la muestra de la variedad verde selenizada, el proceso de concentración de proteína incrementó el CFT en los concentrados proteicos al compararlos con la harina de la que se purificó (tratamiento  $p < 0.0001$ ). Por otra parte, se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.0001$ ) por el contenido de selenio. Se observó que el CFT fue menor en los garbanzos germinados- selenizados (sin digerir), esta tendencia coincide con Salazar-Montoya y col. (2023). La variedad de garbanzo no tuvo efecto significativo en CFT en las muestras sin digerir.

La SDG liberó compuestos fenólicos ligados a macromoléculas potenciando su bioaccesibilidad (Acosta-Estrada y col., 2014; Rocchetti y col., 2022). En los digeridos solubles de harinas y concentrados el CFT varió de 5.33 a 6.05 mgGAE/g. Di Stefano y col. (2019) reportaron un CFT de 5.43 mgGAE/g en digerido de garbanzo germinado (3 días). En cuanto a los digeridos insolubles de las harinas se encontraron valores de 2.8 a 4.7 mgGAE/g. Mientras que en los digeridos insolubles de los concentrados se registraron valores de 5.82 a 6.16 mg/g. Milán-Noris y col. (2018) reportaron valores más altos (9.9 mgGAE/g) de CFT en digerido insoluble en concentrado de garbanzo desi germinado.

El índice de bioaccesibilidad (IB) refleja la fracción potencial para ser absorbida, en las harinas osciló de 55.58 a 67.72 %. mientras que los valores que de los concentrados fueron menores (47-49%), indicando que el proceso de concentración de proteínas hace menos bioaccesibles los CFT. Otros autores han reportado valores más altos de bioaccesibilidad (87.1%) de CFT en garbanzo germinado (Hithamani y col., 2014). Sin embargo, en nuestras

muestras de garbanzo se observa que tienen un potencial efecto prebiótico, como se ha reportado previamente para esta leguminosa, y potencial reducción de riesgo del desarrollo de cáncer de colon (Aravind y col., 2021; Kang y col., 2023).

El índice de recuperación (IR) de CFT varió entre 592 y 943 %. Este índice representa al porcentaje de CFT liberado durante la SDG en comparación a la muestra sin digerir. La liberación de los compuestos polifenólicos de la matriz alimentaria durante la digestión se debe a la descomposición de enlaces en un medio ácido, permitiendo su absorción intestinal gracias a enzimas digestivas y el pH del ambiente (Luzardo-Ocampo y col., 2017). Las muestras no mostraron un patrón de comportamiento, los valores de IR en las muestras selenizadas fue mayor que sus contrapartes sin selenio, salvo en la harina de garbanzo germinado variedad negra.

### **3. Cuantificación de isoflavonas**

El cuadro 7 presenta el contenido de formononetina y biocanina-A en harinas y concentrados proteicos de garbanzo desi germinado y selenizado. La germinación modifica la concentración y el perfil de isoflavonas en diferentes variedades de garbanzo desi (Milán Noris, 2017), destacando biocanina-A y formononetina como las isoflavonas predominantes (de Camargo y col., 2019; Zhang y col., 2012). Por otra parte, Raza y col. (2020) recomiendan incorporar selenio (25-50 mg/L) durante germinación industrial de garbanzo kabuli para potenciar el contenido de isoflavonas.

En las muestras sin digerir, la variedad de garbanzo ( $p < 0.0001$ ), el contenido de selenio ( $p < 0.0001$ ) y el tratamiento ( $p < 0.0001$ ) tuvieron un efecto significativo sobre el contenido de formononetina y biocanina-A. En harinas de garbanzo sin digerir, el contenido de formononetina varió entre 25.3-197.7  $\mu\text{g/g}$ , siendo mayor en la variedad negra y las

**Cuadro 7.** Cuantificación de isoflavonas ( $\mu\text{g/g}$ ) de harinas y concentrados proteicos de variedades de garbanzo desi germinado o selenizado.

		Sin digerir		Digerido soluble		Digerido insoluble		IB (%)		IR (%)	
		Negra	Verde	Negra	Verde	Negra	Verde	Negra	Verde	Negra	Verde
<b>Formononetina (<math>\mu\text{g/g}</math>)</b>											
Harina	Germinada	197.7 $\pm$ 3.7 <sup>A<sub>b</sub></sup>	84.9 $\pm$ 1.4 <sup>B<sub>c</sub></sup>	294.8 $\pm$ 6.9 <sup>A<sub>a</sub></sup>	247.8 $\pm$ 4.0 <sup>B<sub>b</sub></sup>	5.2 $\pm$ 0.3 <sup>A<sub>c</sub></sup>	5.90 $\pm$ 0.7 <sup>A<sub>c</sub></sup>	98.3 $\pm$ 0.1 <sup>A<sub>a</sub></sup>	97.7 $\pm$ 0.3 <sup>A<sub>a</sub></sup>	152.7 $\pm$ 0.9 <sup>B<sub>b</sub></sup>	300.0 $\pm$ 0.2 <sup>A<sub>c</sub></sup>
	Selenizada	74.2 $\pm$ 6.2 <sup>A<sub>c</sub></sup>	25.3 $\pm$ 0.4 <sup>B<sub>c</sub></sup>	93.8 $\pm$ 1.5 <sup>B<sub>d</sub></sup>	119.4 $\pm$ 1.5 <sup>A<sub>c</sub></sup>	1.3 $\pm$ 0.1 <sup>B<sub>c</sub></sup>	2.5 $\pm$ 0.1 <sup>A<sub>c</sub></sup>	98.7 $\pm$ 0.1 <sup>A<sub>a</sub></sup>	98.0 $\pm$ 0.1 <sup>B<sub>a</sub></sup>	129.0 $\pm$ 12.6 <sup>B<sub>b</sub></sup>	483.3 $\pm$ 5.6 <sup>A<sub>a</sub></sup>
Concentrado	Germinado	619.4 $\pm$ 51.9 <sup>A<sub>a</sub></sup>	605.0 $\pm$ 54.5 <sup>A<sub>a</sub></sup>	272.9 $\pm$ 4.5 <sup>B<sub>b</sub></sup>	311.1 $\pm$ 10.9 <sup>A<sub>a</sub></sup>	1912.1 $\pm$ 126.8 <sup>A<sub>a</sub></sup>	1707.5 $\pm$ 88.5 <sup>A<sub>a</sub></sup>	12.6 $\pm$ 0.5 <sup>A<sub>c</sub></sup>	15.5 $\pm$ 1.1 <sup>A<sub>b</sub></sup>	355.1 $\pm$ 51.1 <sup>A<sub>a</sub></sup>	334.8 $\pm$ 17.2 <sup>A<sub>c</sub></sup>
	Selenizado	259.1 $\pm$ 14.1 <sup>A<sub>b</sub></sup>	229.5 $\pm$ 15.6 <sup>A<sub>b</sub></sup>	174.4 $\pm$ 2.4 <sup>A<sub>c</sub></sup>	121.4 $\pm$ 1.1 <sup>B<sub>c</sub></sup>	996.2 $\pm$ 74.7 <sup>A<sub>b</sub></sup>	801.5 $\pm$ 23.7 <sup>A<sub>b</sub></sup>	14.9 $\pm$ 0.9 <sup>A<sub>b</sub></sup>	13.2 $\pm$ 0.5 <sup>A<sub>b</sub></sup>	451.7 $\pm$ 4.3 <sup>A<sub>a</sub></sup>	402.8 $\pm$ 17.6 <sup>A<sub>b</sub></sup>
<b>Biocanina-A (<math>\mu\text{g/g}</math>)</b>											
Harina	Germinada	263.8 $\pm$ 19.4 <sup>A<sub>b</sub></sup>	142.1 $\pm$ 9.9 <sup>B<sub>bc</sub></sup>	413.5 $\pm$ 7.6 <sup>A<sub>a</sub></sup>	408.5 $\pm$ 7.3 <sup>A<sub>b</sub></sup>	6.3 $\pm$ 0.5 <sup>A<sub>c</sub></sup>	3.9 $\pm$ 0.6 <sup>B<sub>c</sub></sup>	98.5 $\pm$ 0.1 <sup>B<sub>a</sub></sup>	99.1 $\pm$ 0.1 <sup>A<sub>a</sub></sup>	160.4 $\pm$ 14.6 <sup>B<sub>c</sub></sup>	292.5 $\pm$ 26.6 <sup>A<sub>bc</sub></sup>
	Selenizada	76.7 $\pm$ 7.5 <sup>A<sub>c</sub></sup>	37.5 $\pm$ 2.5 <sup>B<sub>c</sub></sup>	132.6 $\pm$ 3.0 <sup>B<sub>c</sub></sup>	142 $\pm$ 1.9 <sup>A<sub>c</sub></sup>	1.7 $\pm$ 0.2 <sup>A<sub>c</sub></sup>	0.8 $\pm$ 0.0 <sup>B<sub>c</sub></sup>	98.8 $\pm$ 0.1 <sup>B<sub>a</sub></sup>	99.5 $\pm$ 0.0 <sup>A<sub>a</sub></sup>	176.5 $\pm$ 19.7 <sup>B<sub>c</sub></sup>	381.7 $\pm$ 26.5 <sup>A<sub>b</sub></sup>
Concentrado	Germinado	876.7 $\pm$ 43.3 <sup>A<sub>a</sub></sup>	956.3 $\pm$ 91.4 <sup>A<sub>a</sub></sup>	451.3 $\pm$ 35.4 <sup>A<sub>a</sub></sup>	497.2 $\pm$ 18.0 <sup>A<sub>a</sub></sup>	1818.6 $\pm$ 132.9 <sup>A<sub>a</sub></sup>	885.0 $\pm$ 49.6 <sup>B<sub>b</sub></sup>	12.5 $\pm$ 1.8 <sup>B<sub>b</sub></sup>	24.1 $\pm$ 1.6 <sup>A<sub>b</sub></sup>	423.5 $\pm$ 1.3 <sup>A<sub>b</sub></sup>	218.0 $\pm$ 13.2 <sup>B<sub>c</sub></sup>
	Selenizado	296.0 $\pm$ 28.8 <sup>A<sub>b</sub></sup>	239.4 $\pm$ 16.0 <sup>A<sub>b</sub></sup>	200.0 $\pm$ 2.7 <sup>A<sub>b</sub></sup>	164.2 $\pm$ 0.8 <sup>B<sub>c</sub></sup>	1253.3 $\pm$ 49.6 <sup>A<sub>b</sub></sup>	1155.1 $\pm$ 37.0 <sup>A<sub>a</sub></sup>	8.2 $\pm$ 0.6 <sup>A<sub>c</sub></sup>	7.4 $\pm$ 0.2 <sup>A<sub>c</sub></sup>	823.8 $\pm$ 4.2 <sup>B<sub>a</sub></sup>	931.1 $\pm$ 34.2 <sup>A<sub>a</sub></sup>
<b>Total (<math>\mu\text{g/g}</math>)</b>											
Harina	Germinada	461.5 $\pm$ 15.7 <sup>A<sub>b</sub></sup>	227.1 $\pm$ 8.5 <sup>B<sub>bc</sub></sup>	708.3 $\pm$ 14.5 <sup>A<sub>a</sub></sup>	656.3 $\pm$ 11.3 <sup>B<sub>b</sub></sup>	11.5 $\pm$ 0.7 <sup>A<sub>c</sub></sup>	9.8 $\pm$ 0.1 <sup>B<sub>c</sub></sup>	98.4 $\pm$ 0.1 <sup>A<sub>a</sub></sup>	98.5 $\pm$ 0.1 <sup>A<sub>a</sub></sup>	156.9 $\pm$ 8.5 <sup>B<sub>c</sub></sup>	295.0 $\pm$ 16.7 <sup>A<sub>c</sub></sup>
	Selenizada	150.9 $\pm$ 13.7 <sup>A<sub>c</sub></sup>	62.8 $\pm$ 2.0 <sup>B<sub>c</sub></sup>	226.4 $\pm$ 4.5 <sup>B<sub>c</sub></sup>	261.5 $\pm$ 3.5 <sup>A<sub>c</sub></sup>	2.9 $\pm$ 0.3 <sup>A<sub>c</sub></sup>	3.2 $\pm$ 0.1 <sup>A<sub>c</sub></sup>	98.7 $\pm$ 0.1 <sup>A<sub>a</sub></sup>	98.8 $\pm$ 0.0 <sup>A<sub>a</sub></sup>	153.1 $\pm$ 16.0 <sup>B<sub>c</sub></sup>	422.3 $\pm$ 15.6 <sup>A<sub>b</sub></sup>
Concentrado	Germinado	1496.2 $\pm$ 95.2 <sup>A<sub>a</sub></sup>	1561.4 $\pm$ 145.8 <sup>A<sub>a</sub></sup>	724.2 $\pm$ 39.7 <sup>A<sub>a</sub></sup>	808.3 $\pm$ 28.9 <sup>A<sub>a</sub></sup>	3730.8 $\pm$ 6.1 <sup>A<sub>a</sub></sup>	2592.6 $\pm$ 138.1 <sup>A<sub>a</sub></sup>	12.5 $\pm$ 1.0 <sup>B<sub>b</sub></sup>	19.9 $\pm$ 1.4 <sup>A<sub>b</sub></sup>	395.0 $\pm$ 20.9 <sup>A<sub>b</sub></sup>	263.3 $\pm$ 14.9 <sup>B<sub>c</sub></sup>
	Selenizado	551.1 $\pm$ 3.6 <sup>A<sub>b</sub></sup>	468.9 $\pm$ 42.9 <sup>A<sub>b</sub></sup>	374.4 $\pm$ 4.7 <sup>A<sub>b</sub></sup>	285.7 $\pm$ 0.7 <sup>B<sub>c</sub></sup>	2249.5 $\pm$ 197.8 <sup>A<sub>b</sub></sup>	1956.6 $\pm$ 60.8 <sup>B<sub>b</sub></sup>	10.4 $\pm$ 0.8 <sup>A<sub>b</sub></sup>	9.1 $\pm$ 0.3 <sup>A<sub>c</sub></sup>	650.0 $\pm$ 3.7 <sup>A<sub>a</sub></sup>	672.5 $\pm$ 26.2 <sup>A<sub>a</sub></sup>

IB. índice de bioaccesibilidad. IR. índice de recuperación. Los valores representan las medias  $\pm$  la desviación estándar. Medias con letras diferentes por columna (minúscula subíndice) indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) por el tratamiento y medias con letras diferentes por renglón (mayúscula superíndice) indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) por cultivo de garbanzo.

muestras sin selenizar. En concentrados proteicos, el contenido de formononetina (229 a 619  $\mu\text{g/g}$ ) incremento por el procesamiento al compararse con las harinas de las cuales se concentraron, resultados similares han sido previamente reportados (Megías y col., 2016; Milán-Noris y col., 2018). Tanto en las harinas y concentrados selenizados el contenido de formononetina fue menor que sus contrapartes sin selenizar. El contenido de biocanina-A en las harinas y concentrados fue de 239.4 a 956.3  $\mu\text{g/g}$ , con un comportamiento similar al de la formononetina. Resaltando el efecto reductor de la selenización sobre el contenido de las isoflavonas en las variedades desi, coincidiendo con lo reportado por Zhang y col. (2012), se observó una disminución de un tercio de formononetina y biocanina-A en garbanzos desi germinados-selenizados (50 mg/L)-A. A pesar del efecto de la selenización, las muestras germinadas resultan una fuente rica de isoflavonas como hemos reportado previamente para la variedad negra y verde en su germinación a nivel laboratorio (Domínguez-Arispuro y col., 2021; Milán-Noris y col., 2018).

Resulta interesante el efecto del genotipo del garbanzo donde observamos que en las harinas germinadas y selenizadas el contenido de formononetina y biocanina-A fue mayor en la variedad negra, contrastando con lo previamente reportado en el grano sin procesar de ambos genotipos donde la variedad verde presenta un mayor contenido de biocanina-A (Milán-Noris y col., 2023; Quintero-Soto y col., 2018).

En los digeridos solubles de harinas y concentrados el contenido de formononetina, biocanina y total varió de 93 a 311 mg/g, 132 a 497 mg/g y 226 a 808 mg/g, respectivamente. Mientras que en los digeridos insolubles el contenido de formononetina, biocanina-A y total varió 1.3 a 1912 mg/g, 0.8 a 1818 mg/g y 2.9 a 3730 mg/g, correspondientemente. Salvo el contenido de biocanina-A en los digeridos insolubles de la variedad verde, el contenido de las

isoflavonas fue menor en muestras selenizadas. El contenido de formononetina y biocanina-A en digeridos insolubles fue inferior al del concentrado de garbanzo desi verde digerido estudiado por Milán-Noris y col. (2018), posiblemente debido a las variaciones en la SDG y el contenido de proteína extraída.

Los efectos benéficos de los polifenoles al ser ingeridos no sólo están determinados por su presencia, concentración y perfil químico en los alimentos, sino también por su capacidad para ser eficientemente absorbidos en el tracto gastrointestinal (da Silva y col., 2024). En las harinas el índice de bioaccesibilidad (IB) de formononetina, biocanina-A y total varió de 97.7 a 98.7 %, 98.5 a 99.5 % y 98.4 a 98.8%, respectivamente. Mientras que en los concentrados proteicos los valores de IB variaron de 7.4 a 19.9 %. Kim y col. (2022) mencionan que lo importante que es tener en consideración la matriz alimentaria en la que se hacen los análisis de bioaccesibilidad durante una SDG ya que esta suele ser muy diferente si se hace estudios solo con estándares puros. Por otra parte, Qi y col. (2023) reportaron valores de IB para formononetina (estándar puro) de 1.21%. La pobre bioaccesibilidad en concentrados sugiere que las interacciones entre polifenoles y proteínas pueden afectar la bioaccesibilidad de los concentrados de proteínas. Estudios previos han demostrado que estas interacciones pueden influir en la absorción y disponibilidad de nutrientes en el cuerpo humano (Jakobek, 2015; Le Bourvellec y col., 2012).

El IR de harinas y concentrados, el contenido de formononetina, biocanina y total varió de 129 a 483 %, 160 a 931 % y 289 a 1333 %, respectivamente. A pesar que las muestras no mostraron un patrón de comportamiento, al igual que los valores de IR en CFT, los valores de IR en las muestras selenizadas fue mayor que sus contrapartes sin selenio, salvo en la harina de garbanzo germinado variedad negra.

#### **4. Proteína soluble**

El Cuadro 8 presenta los resultados de proteína soluble (PS) en harinas y concentrados de proteínas de garbanzos desi germinado y selenizado de variedades negra y verde. La variedad de garbanzo ( $p < 0.0001$ ), el contenido de selenio ( $p < 0.0001$ ) y el tratamiento ( $p < 0.0001$ ) tuvieron un efecto significativo sobre los valores de PS. La PS en las harinas sin digerir varió entre 101-109 mg/g, la selenización no tuvo efecto en el contenido de PS en ninguna de las variedades. La harina germinada de variedad negra presentó mayor contenido de PS que la variedad verde. En trabajos previos se observaron contenidos de PS mayores (150-268 mg/g) en garbanzo desi germinado a nivel laboratorio por 5 días en condiciones similares (Mascareño-Montoya y col., 2024; Milán-Noris y col., 2018). En los concentrados sin digerir se observó un mayor contenido de PS que las harinas (132-166 mg/g). Donde las muestras selenizadas tuvieron mayor contenido de PS que sus contrapartes sin selenizar y la variedad verde presenta un mayor contenido de PS. En trabajos previos observamos un mayor contenido de PS (217 a 329 mg/g) en concentrados de garbanzo desi germinado a nivel laboratorio, aumentando dependiente a la dosis de Se (0, 2 y 4 mg Se/100g) (Salazar-Montoya y col., 2023).

La SDG aumentó la PS en las muestras, lo cual puede estar relacionado a la formación de pequeños péptidos (Sandoval-Sicairos y col., 2021). Los valores de PS en los digeridos solubles de las harinas varió entre 227 y 258 mg/g. Mientras que los digeridos solubles de los concentrados varió entre 267 a 412 mg/g siendo significativamente mayor en las muestras selenizadas. Un comportamiento similar se observó en los digeridos insolubles de harinas y concentrados, observándose un mayor contenido en los digeridos insolubles de los concentrados (438-789 mg/g).

**Cuadro 8.** Contenido de proteína soluble (mg/g) en harinas y concentrados proteicos de variedades de garbanzo desi germinado o selenizado.

		Sin digerir		Digerido soluble		Digerido insoluble		IB (%)		IR (%)	
		Negra	Verde	Negra	Verde	Negra	Verde	Negra	Verde	Negra	Verde
Harina	Germinada	108±6 <sup>A</sup> <sub>c</sub>	101±2 <sup>B</sup> <sub>c</sub>	230±8 <sup>B</sup> <sub>c</sub>	258±13 <sup>A</sup> <sub>b</sub>	213±14 <sup>A</sup> <sub>c</sub>	180±5 <sup>B</sup> <sub>c</sub>	52±1 <sup>B</sup> <sub>a</sub>	59±2 <sup>A</sup> <sub>a</sub>	395±24 <sup>A</sup> <sub>c</sub>	424±10 <sup>A</sup> <sub>c</sub>
	Selenizada	108±7 <sup>A</sup> <sub>c</sub>	109±5 <sup>A</sup> <sub>c</sub>	227±6 <sup>A</sup> <sub>c</sub>	232±3 <sup>A</sup> <sub>c</sub>	252±3 <sup>A</sup> <sub>c</sub>	210±3 <sup>B</sup> <sub>c</sub>	47±1 <sup>B</sup> <sub>ab</sub>	52±1 <sup>A</sup> <sub>b</sub>	418±4 <sup>A</sup> <sub>c</sub>	391±2 <sup>B</sup> <sub>c</sub>
Concentrado	Germinado	132±2 <sup>B</sup> <sub>b</sub>	158±3 <sup>A</sup> <sub>b</sub>	367±7 <sup>A</sup> <sub>b</sub>	267±8 <sup>B</sup> <sub>b</sub>	438±22 <sup>B</sup> <sub>b</sub>	526±25 <sup>A</sup> <sub>b</sub>	46±1 <sup>A</sup> <sub>b</sub>	34±0 <sup>B</sup> <sub>c</sub>	608±17 <sup>A</sup> <sub>b</sub>	498±29 <sup>B</sup> <sub>b</sub>
	Selenizado	154 ± 5 <sup>B</sup> <sub>a</sub>	166±8 <sup>A</sup> <sub>a</sub>	397 ± 15 <sup>A</sup> <sub>a</sub>	412±5 <sup>A</sup> <sub>a</sub>	756±67 <sup>A</sup> <sub>a</sub>	789±26 <sup>A</sup> <sub>a</sub>	34±3 <sup>A</sup> <sub>c</sub>	34±1 <sup>A</sup> <sub>c</sub>	731±28 <sup>A</sup> <sub>a</sub>	693±10 <sup>A</sup> <sub>a</sub>

IB. índice de bioaccesibilidad. IR. índice de recuperación. Los valores representan las medias ± la desviación estándar. Medias con letras diferentes por columna (minúscula subíndice) indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) por el tratamiento y medias con letras diferentes por renglón (mayúscula superíndice) indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) por cultivo de garbanzo.

El IB en harinas fue de 47 a 59%, y concentrados de 34% a 46%, se observó que en casi todas las muestras la selenización disminuye la bioaccesibilidad de la PS. Por otro lado, los valores de IR variaron de 391 a 731 % siendo mayor en los concentrados y en algunas muestras fue mayor la recuperación en la variedad negra.

##### **5. Proteína soluble y péptidos de fracciones peptídicas (10 kDa) insolubles**

En Cuadro 9 se muestra el contenido de proteína soluble y péptidos de fracciones peptídicas (<10 kDa) de los digeridos insolubles de harinas y concentrados proteicos de garbanzo desi verde y negro germinado y selenizado. El contenido de PS de las harinas varió entre 113.6 y 203.2 mg/g, la selenización solo resultó en un aumento significativo en la harina de la variedad verde. El contenido de los concentrados osciló entre 160.6 y 238.9 mg/g. Los resultados sugieren que el proceso de selenización ha tenido un efecto significativo. En particular, se observa una disminución en el contenido de PS en el concentrado selenizado de la variedad negra. Mientras que en la variedad verde se observa un aumento debido a la selenización. No hubo diferencias entre variedades del concentrado germinado, sin embargo, en el concentrado selenizado se observa que la variedad verde presentó mayor contenido de PS. La selenización afecta de manera diferencial el contenido de proteína soluble en las muestras analizadas. En trabajos previos se reportó un contenido de PS de aproximadamente 565 mg/g para digeridos insolubles de garbanzo germinado desi (<10 kDa) con actividad antiinflamatoria (Milán-Noris y col., 2018). También se ha reportado el potencial de proteínas y péptidos de garbanzo en la modulación de microbiota relacionado a su actividad antioxidante (Kang y col., 2023).

El contenido de péptidos de la fracción insoluble (<10 kDa) de las harinas oscilaron entre 136.7 y 196.2 mg/g. La selenización únicamente disminuyó el contenido de péptidos de

**Cuadro 9.** Contenido de proteína soluble y péptidos de fracciones peptídicas (10kDa) de los digeridos insolubles de harinas y concentrados proteicos de variedades de garbanzo desi germinado o selenizado.

		<b>Proteína soluble (mg/g)</b>		<b>Péptidos (mg/g)</b>	
		Negra	Verde	Negra	Verde
Harina	Germinada	127.9±9.0 <sup>A<sub>c</sub></sup>	130.9±1.5 <sup>A<sub>c</sub></sup>	192.2±17.8 <sup>A<sub>a</sub></sup>	220.2±7.3 <sup>A<sub>b</sub></sup>
	Selenizada	113.6±10.4 <sup>B<sub>c</sub></sup>	203.2±2.5 <sup>A<sub>b</sub></sup>	196.2±10.9 <sup>A<sub>a</sub></sup>	136.7±12.1 <sup>B<sub>c</sub></sup>
Concentrado	Germinado	194.9±10.2 <sup>A<sub>a</sub></sup>	197.2±6.8 <sup>A<sub>b</sub></sup>	228.7±22.7 <sup>A<sub>a</sub></sup>	212.2±17.8 <sup>A<sub>b</sub></sup>
	Selenizado	160.6±6.6 <sup>B<sub>b</sub></sup>	238.9±3.1 <sup>A<sub>a</sub></sup>	202.9±15.9 <sup>B<sub>a</sub></sup>	413.6±37.5 <sup>A<sub>a</sub></sup>

Los valores representan las medias ± desviación estándar. Medias con letras diferentes por columna (minúscula subíndice) indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) por el tratamiento y medias con letras diferentes por renglón (mayúscula superíndice) indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) por cultivo de garbanzo.

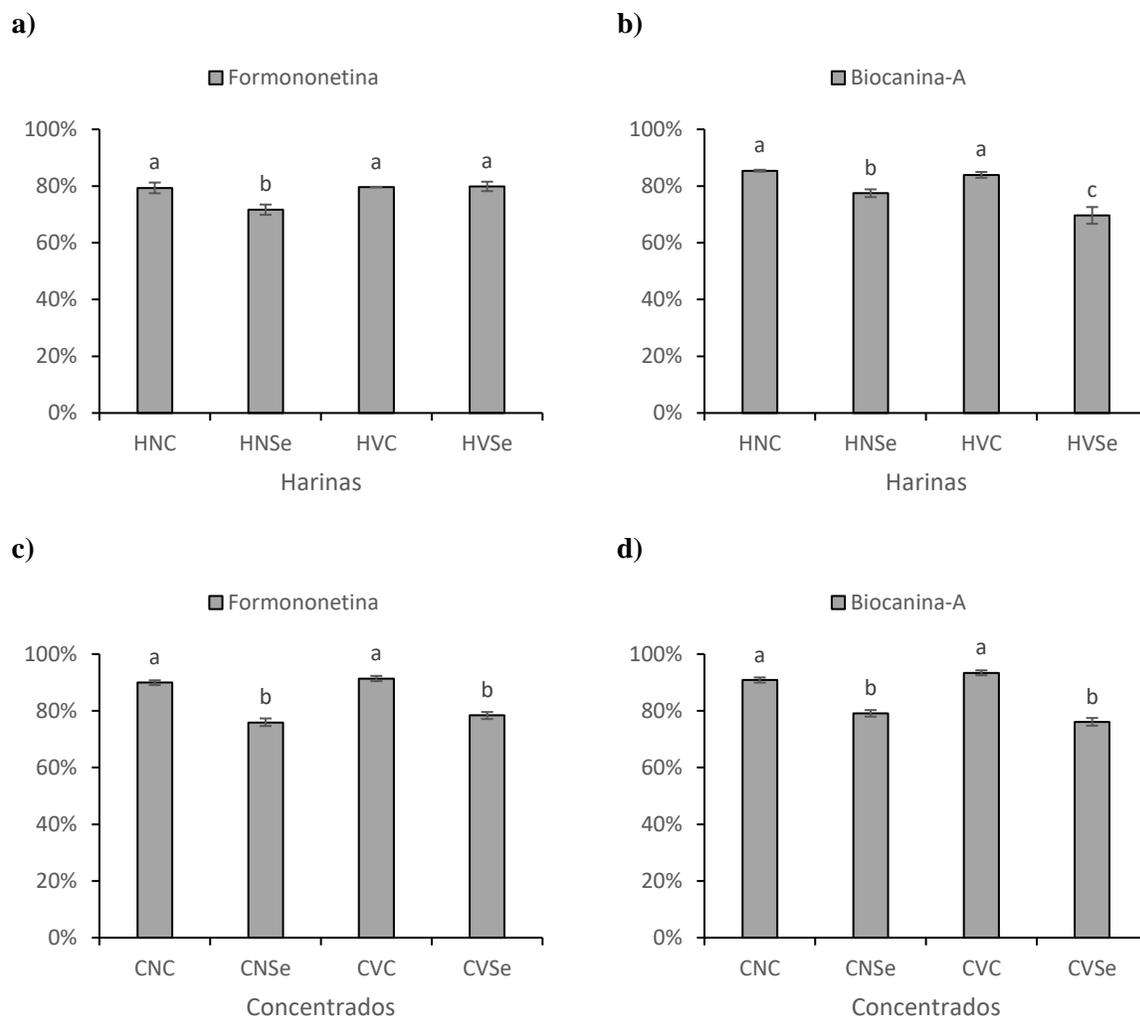
la harina verde. Entre las variedades se observó que en las harinas selenizadas la variedad negra presentó mayor contenido. En los concentrados el contenido de péptidos insolubles presentes varió entre 212.2 y 413.6 mg/g. La selenización del concentrado de la variedad verde aumentó el contenido de péptidos insolubles de manera significativa. Tras la selenización se observó diferencia de contenido entre las variedades, siendo el concentrado de proteínas de la variedad verde la de mayor contenido. Wang y col. (2022) señalaron que las diferencias genotípicas son la principal fuente de variación en los metabolitos. Destacando que las variedades tienen diferentes sensibilidades al tratamiento, al identificar que las dos variedades de frijol enriquecidas con selenio tenían rutas metabólicas distintas, lo que indica una respuesta específica de cada variedad al tratamiento con selenio.

Péptidos cortos y residuos de aminoácidos pudieran atravesar la barrera intestinal con mayor facilidad (Zhang y col., 2019). Se han reportado péptidos con tamaño menor a <10 kDa con potencial antioxidante (Yili y col., 2012). Los péptidos insolubles derivados de la germinación-selenización de garbanzo del presente estudio, pueden tener efectos beneficiosos en la salud intestinal al proporcionar actividad antioxidante, antiinflamatoria y promover la salud del microbiota como se ha reportado previamente (Kang y col., 2023; Milán-Noris y col., 2018).

**6. Permeabilidad Caco-2**

La comprensión de la biodisponibilidad de complementos alimenticios es crucial para entender su actividad biológica. El modelo de monocapa Caco-2 se emplea para predecir la permeabilidad intestinal de compuestos bioactivos debido a su similitud con el intestino delgado (Fang y col., 2017a). Aunque se ha estudiado la permeabilidad en Caco-2 de las isoflavonas, se requieren más investigaciones debido a la variabilidad de productos (Almeida y col., 2015; Kim y col., 2022). Las isoflavonas glucosídicas deben ser hidrolizadas a su forma aglicona antes de ser absorbidas por difusión pasiva en el intestino (Gómez-Zorita y col., 2020). Fang y col. (2017a) resaltaron que la concentración de agliconas de isoflavonas presentes en las células no está relacionada con su capacidad de penetrar en ellas. Este hallazgo subraya la complejidad de los mecanismos de absorción de estos compuestos.

De acuerdo al modelo evaluado se simula la permeabilidad (Caco-2) de las isoflavonas (formononetina y biocanina-A) en los tiempos 0 y 120 min. En la Figura 3 (a-d) se observan los porcentajes de permeabilidad de las isoflavonas de los digeridos solubles de harinas y concentrados de garbanzo desi negro y verde germinado-selenizado. La formononetina en las harinas (Figura 3a) tiene una permeabilidad de 71.7 a 79.9%, mientras que en los concentrados (Figura 3c) varió de 75.8% a 91.3%. Salvo en harina de garbanzo verde, las muestras con selenio presentaron porcentajes menores de permeabilidad en esta isoflavona. La permeabilidad de biocanina-A para harinas varió de 69.7% a 85.4% (Figura 3b) y para concentrados de 76.1% a 93.4% (Figura 3d). La permeación de biocanina-A en las muestras selenizadas mostró una disminución en su capacidad para atravesar la barrera intestinal (modelo Caco-2) durante la simulación de absorción. Jia y col. (2004) en el modelo caco-2, las isoflavonas formononetina



**Figura 2.** Permeabilidad de formononetina y biocanina-A (%) en harinas y concentrados proteicos de garbanzo germinado tipo desi verde y negro con y sin selenio. Permeaciones de formononetina y biocanina-A en harinas (a y b) y en concentrados (c y d). VC. Garbanzo verde germinado control. VSe. Garbanzo verde germinado-selenizado. NC. Garbanzo negro germinado control. NSe. Garbanzo negro germinado-selenizado. Diferencias significativas se indican mediante letras distintas ( $p > 0.05$ ).

y biocanina-A se absorbieron rápidamente, se conjugaron eficientemente y se excretan tanto apical como basolateralmente. Se excretan más conjugados de formononetina cuando se usaron solas, pero más conjugados de biocanina-A cuando se usó en mezcla de isoflavonas. La eficiencia de acoplamiento enzima-transportador determina la cantidad de metabolitos excretados y la contribución del reciclaje entérico y enterohepático en la disposición *in vivo* de isoflavonas. Luo y col. (2018) encontraron que la formononetina se absorbe mejor en el intestino grueso que en el delgado, similar a la biocanina-A (Jia y col., 2004) indicando específicamente donde se encuentran sus actividades biológicas. Otro estudio en Caco-2 realizado por Almeida y col., (2015) en suplemento de trébol rojo, revela que la permeabilidad formononetina (27.8%) y biocanina-A (27.9%) fue similar.

La permeabilidad tanto de formononetina y biocanina-A fue afectada en las muestras selenizadas. Lo cual se le puede atribuir a la interacción química entre  $\text{SeO}_3$  que puede impedir la difusión de  $\text{SeO}_3^{2-}$  y grupos tiol unidos a proteínas en la membrana celular a través de la monocapa (Leblondel y col., 2001). Una investigación realizada por Wang y col. (2012) reportan una menor eficiencia de transporte en selenito de sodio en comparación con otras formas de selenio. La absorción de selenio oscila entre el 50 al 90% y esta tasa se ve afectada por componentes de la dieta, en los que se adhiere fuertemente (Kazi Tani y col., 2020). Lo que podría influir en la disponibilidad de otros compuestos como la formononetina y biocanina-A.

## **7. Actividad antioxidante y antiinflamatoria celular de digeridos solubles y permeados**

Los garbanzos germinados-selenizados tiene beneficios a salud atribuidos a fenólicos, isoflavonas y péptidos debido a su capacidad de combatir el estrés oxidativo y la inflamación intestinal (Guardado-Félix y col., 2017; Legg y col., 2008; Milán-Noris y col., 2018; Newton y col., 2023; Serrano-Sandoval y col., 2019; Zhang y col., 2012). Anteriormente se ha demostrado actividades antioxidantes y antiinflamatorias en péptidos de soja enriquecidos con selenio (Chen y col., 2023b). Es por ello que el presente estudio presenta la actividad antioxidante celular (Isaacson y col.) en Caco-2 y actividad antiinflamatoria (AAI) (Kazi Tani y col., 2020) en RAW 264.7 de harinas y concentrados proteicos de garbanzo desi verde y negro germinado con y sin selenito de sodio de digeridos solubles antes y después de permear el modelo de membrana celular (Cuadro 10).

La AAC en los digeridos solubles de harinas y concentrados fue de 89 a 93 % y 85 a 93%, respectivamente, donde se observó un efecto de la variedad ( $p=0.0165$ ) y el tratamiento ( $p<0.0001$ ) sobre este parámetro. Newton y col. (2023) analizaron la AAC de digeridos de garbanzos-germinados a una concentración de 50  $\mu\text{g/mL}$  en células intestinales HT29 durante un periodo de 60 min, logrando una actividad de 35.2%, atribuyendo el resultado a la combinación de germinación y digestión que liberan compuestos fenólicos y péptidos responsables de esta actividad. La actividad remanente de los digeridos permeados de las harinas fue de 62.31 a 86.63%, siendo mayor en las muestras selenizadas. En los concentrados proteicos, la actividad remanente del digerido permeado varió de 72.99 a 99.69%, siendo menor en los concentrados selenizados.

**Cuadro 10.** Actividad antioxidante celular (%) y actividad antiinflamatoria (%) de los digeridos solubles y permeados (caco-2) de harinas y concentrados proteicos de variedades de garbanzo desi germinado o selenizado.

		<b>Actividad antioxidante celular (%)<sup>a</sup></b>					
		Digerido soluble		Digerido soluble permeado		Actividad remanente (%)	
		Negra	Verde	Negra	Verde	Negra	Verde
Harina	Germinada	93.60±1.38 <sup>A<sub>a</sub></sup>	89.75±1.21 <sup>B<sub>a</sub></sup>	58.30±4.54 <sup>A<sub>b</sub></sup>	71.14±7.67 <sup>A<sub>ab</sub></sup>	62.31±5.29 <sup>B<sub>c</sub></sup>	79.20±7.65 <sup>A<sub>ab</sub></sup>
	Selenizada	93.13±0.32 <sup>A<sub>a</sub></sup>	93.35±1.21 <sup>A<sub>a</sub></sup>	75.05±7.55 <sup>A<sub>ab</sub></sup>	80.77±6.11 <sup>A<sub>a</sub></sup>	80.57±7.83 <sup>A<sub>bc</sub></sup>	86.63±8.23 <sup>A<sub>ab</sub></sup>
Concentrado	Germinado	85.16±3.27 <sup>B<sub>b</sub></sup>	91.54±2.04 <sup>A<sub>a</sub></sup>	84.34±3.51 <sup>A<sub>a</sub></sup>	82.65±1.17 <sup>A<sub>a</sub></sup>	99.13±5.66 <sup>A<sub>a</sub></sup>	90.30±1.49 <sup>A<sub>a</sub></sup>
	Selenizado	86.26±1.60 <sup>B<sub>b</sub></sup>	91.24±1.08 <sup>A<sub>a</sub></sup>	78.32±9.05 <sup>A<sub>a</sub></sup>	66.62±3.65 <sup>A<sub>b</sub></sup>	90.69±8.85 <sup>A<sub>ab</sub></sup>	72.99±3.21 <sup>B<sub>b</sub></sup>
		<b>Actividad antiinflamatoria (%)<sup>b</sup></b>					
		Digerido soluble		Digerido soluble permeado		Actividad remanente (%)	
		Negra	Verde	Negra	Verde	Negra	Verde
Harina	Germinada	87.65±0.88 <sup>A<sub>a</sub></sup>	74.10±1.05 <sup>B<sub>a</sub></sup>	55.30±2.26 <sup>A<sub>ab</sub></sup>	55.86±1.97 <sup>A<sub>b</sub></sup>	67.42±3.25 <sup>B<sub>b</sub></sup>	75.37±1.74 <sup>A<sub>b</sub></sup>
	Selenizada	86.49±1.24 <sup>A<sub>a</sub></sup>	75.83±1.40 <sup>B<sub>a</sub></sup>	60.66±2.92 <sup>A<sub>a</sub></sup>	65.67±2.09 <sup>A<sub>a</sub></sup>	69.83±2.43 <sup>B<sub>ab</sub></sup>	86.64±3.88 <sup>A<sub>a</sub></sup>
Concentrado	Germinado	74.87±2.60 <sup>A<sub>b</sub></sup>	76.76±1.13 <sup>A<sub>a</sub></sup>	57.75±3.56 <sup>A<sub>ab</sub></sup>	59.57±3.38 <sup>A<sub>ab</sub></sup>	77.21±5.53 <sup>A<sub>a</sub></sup>	77.60±4.07 <sup>A<sub>ab</sub></sup>
	Selenizado	69.86±2.22 <sup>B<sub>b</sub></sup>	76.92±1.72 <sup>A<sub>a</sub></sup>	52.63±2.17 <sup>A<sub>b</sub></sup>	43.73±5.36 <sup>A<sub>c</sub></sup>	75.39±2.69 <sup>A<sub>ab</sub></sup>	56.79±6.14 <sup>B<sub>c</sub></sup>

<sup>a</sup>Caco-2 (dosis de muestra: [50 µg/mL]) <sup>b</sup>RAW 264.7 (dosis: 50 µg/mL muestra; 1µg/mL de lipopolisacárido). Los valores representan las medias ± desviación estándar. Medias con letras diferentes por columna (minúscula subíndice) indican diferencia significativa (p<0.05) por el tratamiento y medias con letras diferentes por renglón (mayúscula superíndice) indican diferencia significativa (p<0.05) por cultivo de garbanzo.

negro se observó una mayor AAI, pero en los concentrados no se observó un comportamiento similar. Se ha reportado efecto anti-inflamatorio de biocanina-A y formononetina en macrófagos (RAW 267.4) estimulados por LPS reduciendo la producción de citoquinas proinflamatorias (Kole y col., 2011; Shin y col., 2016). La actividad remanente de AAI de los digeridos permeados de las harinas fue de 67 a 86%, y en los concentrados proteicos fue de 56 a 77 %, con un comportamiento similar a la actividad remanente de AAC. En resumen, los resultados sugieren que tanto las harinas y concentrados proteínas retienen una actividad considerable de actividad biológica, y que la selenización puede afectar de manera diferencial la actividad dependiendo del tipo de muestra y variedad. La selenización de harinas mejoró la AAC y la AAI tras la permeación. En concentrados, la selenización disminuyó la AAI en general y la AAC específicamente en la variedad verde.

### 8. Actividad antioxidante y antiinflamatoria celular de digeridos insolubles

La evaluación de la actividad antioxidante celular (Isaacson y col., 2006) en Caco-2 y antiinflamatoria (AAI) en RAW 264.7 de los digeridos insolubles y su fracción peptídica (<10kDa) de harinas y concentrados proteicos de garbanzos desi (verde y negro) germinados y selenizados, se presenta en el cuadro 11.

La AAC en los digeridos insolubles de harinas y concentrados fue de 88 a 97 % y 92 a 98%, respectivamente. Estudios previos han asociado un aumento de la actividad antioxidante en las muestras germinadas en presencia de selenio (Hernández-Grijalva y col., 2022; Serrano-Sandoval y col., 2019), sin embargo, solamente la harina de garbanzo negra es significativamente mayor que su contraparte sin selenio. Por otra parte, los resultados de la AAC de los digeridos insolubles tienen un gran potencial efecto benéfico, previamente se ha reportado como las proteínas y péptidos de garbanzo modulan la microbiota al mismo tiempo de presentar actividad antioxidante (Kang y col., 2023). En las fracciones peptídicas, la AAC fue menor que sus contrapartes sin purificar, salvo la muestra harina de garbanzo germinado negro. Las diferencias entre las muestras fueron principalmente al efecto de tratamiento. De cualquier forma, la AAC de estas fracciones resultan de gran interés ya que podemos relacionar el efecto con el contenido de los péptidos menores de 10 kDa (Cuadro 9) y lo remanentes de isoflavonas que quedan en la fracción.

La AAI en los digeridos insolubles de harinas y concentrados fue de 86 a 89% y 84 a 89%, respectivamente. Mientras que la actividad antiinflamatoria de las fracciones vario de 74 a 89%, siendo menor la actividad en la fracción peptídica salvo 3 excepciones (harina y concentrados de garbanzo negro germinado y harina de garbanzo verde selenizado).

**Cuadro 11.** Actividad antioxidante celular (%) y actividad antiinflamatoria (%) de digeridos insolubles de harinas y concentrados proteicos de variedades de garbanzo desi germinado o selenizado.

		<b>Actividad antioxidante celular (%)<sup>a</sup></b>			
		Digerido insoluble		Fracción peptídica insoluble (<10 KDa)	
		Negra	Verde	Negra	Verde
Harina	Germinada	88.21±3.26 <sup>B<sub>b</sub></sup>	96.26±2.25 <sup>A<sub>a</sub></sup>	95.21±2.67 <sup>A<sub>a</sub></sup>	91.24±2.27 <sup>A<sub>ab</sub></sup>
	Selenizada	96.26±1.33 <sup>A<sub>a</sub></sup>	97.37±1.11 <sup>A<sub>a</sub></sup>	94.04±2.66 <sup>A<sub>ab</sub></sup>	93.38±1.70 <sup>A<sub>a</sub></sup>
Concentrado	Germinado	98.66±1.43 <sup>A<sub>a</sub></sup>	92.70±1.08 <sup>B<sub>a</sub></sup>	88.32±1.99 <sup>A<sub>bc</sub></sup>	84.57±2.11 <sup>A<sub>c</sub></sup>
	Selenizado	95.49±3.49 <sup>A<sub>a</sub></sup>	96.28±3.24 <sup>A<sub>a</sub></sup>	87.79±2.01 <sup>A<sub>c</sub></sup>	85.32±3.35 <sup>A<sub>bc</sub></sup>
		<b>Actividad anti-inflamatoria (%)<sup>b</sup></b>			
		Digerido insoluble		Fracción peptídica insoluble (<10 KDa)	
		Negra	Verde	Negra	Verde
Harina	Germinada	86.22±0.71 <sup>B<sub>ab</sub></sup>	89.63±1.24 <sup>A<sub>a</sub></sup>	88.50±0.84 <sup>A<sub>a</sub></sup>	89.88±1.21 <sup>A<sub>a</sub></sup>
	Selenizada	89.26±1.21 <sup>A<sub>a</sub></sup>	88.88±0.60 <sup>A<sub>ab</sub></sup>	84.06±1.49 <sup>B<sub>b</sub></sup>	89.04±0.42 <sup>A<sub>a</sub></sup>
Concentrado	Germinado	85.96±1.14 <sup>A<sub>b</sub></sup>	86.22±0.96 <sup>A<sub>b</sub></sup>	87.23±1.51 <sup>A<sub>a</sub></sup>	74.03±1.24 <sup>B<sub>c</sub></sup>
	Selenizado	84.52±1.50 <sup>B<sub>b</sub></sup>	88.75±1.32 <sup>A<sub>ab</sub></sup>	81.85±0.67 <sup>B<sub>b</sub></sup>	85.76±0.85 <sup>A<sub>b</sub></sup>

<sup>a</sup>Caco-2 (dosis de muestra: [50 µg/mL]) <sup>b</sup>RAW 264.7 (dosis: 50 µg/mL muestra; 1µg/mL de lipopolisacárido). Los valores representan las medias ± desviación estándar. Medias con letras diferentes por columna (minúscula subíndice) indican diferencia significativa (p<0.05) por el tratamiento y medias con letras diferentes por renglón (mayúscula superíndice) indican diferencia significativa (p<0.05) por cultivo de garbanzo.

Anteriormente, Milán-Noris y col. (2018) evidenciaron el potencial efecto antiinflamatorio de péptidos e isoflavonas de garbanzo germinado no absorbibles de las digestiones gastrointestinales con gran potencial para la salud intestinal. Los péptidos y fracciones no digeribles de harinas y concentrados proteicos de garbanzos germinados-selenizados pueden tener efectos positivos en el sistema gastrointestinal, promoviendo la salud y microbiota intestinal, por sus compuestos bioactivos con propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, ayudando en la prevención de enfermedades intestinales.

## IX. CONCLUSIÓN

1. La suplementación con selenio durante la germinación y su posterior concentración resulto en una buena estrategia para enriquecer la muestra con selenio en especial la variedad negra que aumento 133 veces su contenido de selenio. Entre las propiedades tecnofuncionales resalta la disminución en la solubilidad de los concentrados proteicos al comprarlo con sus contrapartes harinas.
2. La selenización tuvo un impacto sobre el contenido de compuestos bioactivos inverso al que se esperaba de acuerdo con la literatura. Por otra parte, la SDG liberó significativamente CFT, PS e isoflavonas, también se observó la formación de péptidos (SDS-page). La bioaccesibilidad de las harinas fue significativamente mayor en comparado con sus concentrados proteicos. Los compuestos bioactivos de los concentrados proteicos fueron en mayor porcentaje insolubles por lo que tienen un mayor potencial de actuar como prebióticos y modular microbiota.
3. La biodisponibilidad *in vitro* de formononetina y biocanina-A fue menor en las muestras selenizadas. La biocanina-A en las muestras selenizadas redujo en su capacidad para atravesar la barrera intestinal (modelo Caco-2) durante la simulación de absorción. En la formononetina se observó un efecto similar en las muestras con selenio, salvo en harina de garbanzo verde.
4. Las isoflavonas y posibles péptidos presentes en las harinas y concentrados de proteínas de garbanzo germinado-selenizado mostraron un considerable potencial antioxidante y anti-inflamatorio que se conservó al permear el modelo de membrana.
5. Los péptidos (<10kDa) de las fracciones no digerible en harinas y concentrados proteicos de garbanzo desi germinado-selenizado presentan un potencial efecto antioxidante y antiinflamatorio.

## X. BIBLIOGRAFIA

- Abeer, M. M., Trajkovic, S., & Brayden, D. (2021). Measuring the oral bioavailability of protein hydrolysates derived from food sources: A critical review of current bioassays. *Biomedicine Pharmacotherapy*, *144*, 112275.
- Acosta-Estrada, B. A., Gutiérrez-Urbe, J. A., & Serna-Saldívar, S. O. (2014). Bound phenolics in foods, a review. *Food Chemistry*, *152*, 46-55.
- Adewale, G. G., Olajide, P. A., Omowumi, O. S., Okunlola, D. D., Taiwo, A. M., & Adetuyi, B. O. (2022). Toxicological Significance of the Occurrence of Selenium in Foods. *World News of Natural Sciences*, *44*, 63-88.
- Aguilar-Raymundo, V., & Vélez-Ruiz, J. (2013). Propiedades nutricionales y funcionales del garbanzo (*Cicer arietinum* L.). *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos*, *7*(2), 25-34.
- Aguilar-Raymundo, V. G., & Vélez-Ruiz, J. F. (2019). Yoghurt-type beverage with partial substitution of milk by a chickpea extract: Effect on physicochemical and flow properties. *International Journal of Dairy Technology*, *72*(2), 266-274. doi:<https://doi.org/10.1111/1471-0307.12581>
- Aisa, H. A., Gao, Y., Yili, A., Ma, Q., & Cheng, Z. (2019). Beneficial role of chickpea (*Cicer arietinum* L.) functional factors in the intervention of metabolic syndrome and diabetes mellitus. In *Bioactive food as dietary interventions for diabetes* (pp. 615-627): Elsevier.
- Akahoshi, N., Anan, Y., Hashimoto, Y., Tokoro, N., Mizuno, R., Hayashi, S., . . . Ishii, I. (2019). Dietary selenium deficiency or selenomethionine excess drastically alters organ selenium contents without altering the expression of most selenoproteins in mice. *The Journal of nutritional biochemistry*, *69*, 120-129.
- Almeida, I., Rodrigues, F., Sarmiento, B., Alves, R., & Oliveira, M. (2015). Isoflavones in food supplements: chemical profile, label accordance and permeability study in Caco-2 cells. *Food function*, *6*(3), 938-946.
- Alsaman, F. B., & Ramaswamy, H. (2020). Reduction in soaking time and anti-nutritional factors by high pressure processing of chickpeas. *Journal of Food Science Technology*, *57*(7), 2572-2585.
- Alu'datt, M. H., Rababah, T., Alhamad, M. N., Ereifej, K., Gammoh, S., Kubow, S., & Tawalbeh, D. (2017). Preparation of mayonnaise from extracted plant protein isolates of chickpea, broad bean and lupin flour: chemical, physiochemical, nutritional and therapeutic properties. *Journal of Food Science Technology*, *54*(6), 1395-1405.
- Amigo, L., & Hernández-Ledesma, B. (2020). Current evidence on the bioavailability of food bioactive peptides. *Molecules*, *25*(19), 4479.
- An, J.-K., Chung, A.-S., & Churchill, D. G. (2023). Nontoxic Levels of Se-Containing Compounds Increase Survival by Blocking Oxidative and Inflammatory Stresses via Signal Pathways Whereas High Levels of Se Induce Apoptosis. *Molecules*, *28*(13), 5234.
- Aravind, S. M., Wichienchot, S., Tsao, R., Ramakrishnan, S., & Chakkaravarthi, S. (2021). Role of dietary polyphenols on gut microbiota, their metabolites and health benefits. *Food Research International*, *142*, 110189.
- Bastola, M. M., Locatis, C., Maisiak, R., & Fontelo, P. (2020). Selenium, copper, zinc and hypertension: An analysis of the National Health and Nutrition Examination Survey (2011–2016). *BMC Cardiovascular Disorders*, *20*(1), 1-8.

- Bjørklund, G., Shanaida, M., Lysiuk, R., Antonyak, H., Klishch, I., Shanaida, V., & Peana, M. (2022). Selenium: An antioxidant with a critical role in anti-aging. *Molecules*, 27(19), 6613.
- Bochenek, H., Chinkwo, K., Santhakumar, A., Francis, N., & Blanchard, C. (2019). *The anti-cancer effects of various chickpea extracts*. Paper presented at the 69th Australasian Grain Science Conference.
- Bohn, T., Carriere, F., Day, L., Deglaire, A., Egger, L., Freitas, D., . . . Ménard, O. (2018). Correlation between *in vitro* and *in vivo* data on food digestion. What can we predict with static *in vitro* digestion models? *Critical reviews in food science nutrition*, 58(13), 2239-2261.
- Bordenave, N., Hamaker, B. R., & Ferruzzi, M. G. (2014). Nature and consequences of non-covalent interactions between flavonoids and macronutrients in foods. *Food function*, 5(1), 18-34.
- Boukid, F. (2021). Chickpea (*Cicer arietinum* L.) protein as a prospective plant-based ingredient: a review. *International Journal of Food Science Technology*, 56(11), 5435-5444.
- Boye, J., Aksay, S., Roufik, S., Ribéreau, S., Mondor, M., Farnworth, E., & Rajamohamed, S. (2010a). Comparison of the functional properties of pea, chickpea and lentil protein concentrates processed using ultrafiltration and isoelectric precipitation techniques. *Food Research International*, 43(2), 537-546.
- Boye, J. I., Roufik, S., Pesta, N., & Barbana, C. (2010b). Angiotensin I-converting enzyme inhibitory properties and SDS-PAGE of red lentil protein hydrolysates. *LWT-Food Science Technology*, 43(6), 987-991.
- Brigelius-Flohé, R., & Flohé, L. (2017). Selenium and redox signaling. *Archives of biochemistry biophysics*, 617, 48-59.
- Brodkorb, A., Egger, L., Alminger, M., Alvito, P., Assunção, R., Ballance, S., . . . Carrière, F. (2019). INFOGEST static *in vitro* simulation of gastrointestinal food digestion. *Nature protocols*, 14(4), 991-1014.
- Caicedo-Lopez, L., Luzardo-Ocampo, I., Cuellar-Nuñez, M., Campos-Vega, R., Mendoza, S., & Loarca-Piña, G. (2019). Effect of the *in vitro* gastrointestinal digestion on free-phenolic compounds and mono/oligosaccharides from *Moringa oleifera* leaves: Bioaccessibility, intestinal permeability and antioxidant capacity. *Food Research International*, 120, 631-642.
- Castel, T., Theron, M., Pichavant-Rafini, K., Guernec, A., Joublin-Delavat, A., Gueguen, B., & Leon, K. (2021). Can selenium-enriched spirulina supplementation ameliorate sepsis outcomes in selenium-deficient animals? *Physiological Reports*, 9(14), e14933.
- Chandrasekaran, S., & de Mejia, E. G. (2023). Germinated chickpea protein ficin hydrolysate and its peptides inhibited glucose uptake and affected the bitter receptor signaling pathway *in vitro*. *Food function*.
- Chang, Y.-W., Alli, I., Molina, A. T., Konishi, Y., & Boye, J. I. (2012). Isolation and characterization of chickpea (*Cicer arietinum* L.) seed protein fractions. *Food bioprocess technology*, 5(2), 618-625.
- Chavan, J., Kadam, S., Salunkhe, D., & Beuchat, L. R. (1987). Biochemistry and technology of chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds. *Critical reviews in food science nutrition*, 25(2), 107-158.
- Chen, G., Chen, Y., Wu, J., Ma, J., Chen, Y., Huang, W., . . . Li, P. (2023a). Study on the Purification, Identification and Function Analysis of Novel Glucose-Lowering

- Peptides from Chickpea Protein. *Identification Function Analysis of Novel Glucose-Lowering Peptides from Chickpea Protein*.
- Chen, H., Ma, H. R., Gao, Y. H., Zhang, X., Habasi, M., Hu, R., & Aisa, H. A. (2015). Isoflavones extracted from chickpea *Cicer arietinum* L. sprouts induce mitochondria-dependent apoptosis in human breast cancer cells. *Phytotherapy Research*, 29(2), 210-219.
- Chen, L., Cao, H., Huang, Q., Xiao, J., & Teng, H. (2022). Absorption, metabolism and bioavailability of flavonoids: A review. *Critical reviews in food science nutrition*, 62(28), 7730-7742.
- Chen, X., Liu, W., Zhang, J., Li, H., & Liu, X. (2023b). Selenium-enriched peptides identified from selenium-enriched soybean protein hydrolysate: protective effects against heat damage in Caco-2 cells. *Food function*, 14(17), 7882-7896.
- Cheng, H., Li, L., Dong, J., Wang, S., Wu, S., Rao, S., . . . Li, L. (2023). Transcriptome and physiological determination reveal the effects of selenite on the growth and selenium metabolism in mung bean sprouts. *Food Research International*, 169, 112880.
- Cid-Gallegos, M. S., Jiménez-Martínez, C., Sánchez-Chino, X. M., Madrigal-Bujaidar, E., Vásquez-Garzón, V. R., Baltiérrez-Hoyos, R., & Álvarez-González, I. (2023). Chemopreventive Effect of Cooked Chickpea on Colon Carcinogenesis Evolution in AOM/DSS-Induced Balb/c Mice. *Plants*, 12(12), 2317.
- Cimini, A., Poliziani, A., Morgante, L., & Moresi, M. (2023). Assessment of the Malting Process of Purgatory Bean and Solco Dritto Chickpea Seeds. *Foods*, 12(17), 3187.
- Coelho, M., Oliveira, C., Coscueta, E. R., Fernandes, J., Pereira, R. N., Teixeira, J. A., . . . Pintado, M. E. (2022). Bioactivity and bioaccessibility of bioactive compounds in gastrointestinal digestion of tomato bagasse extracts. *Foods*, 11(7), 1064.
- Cornelio, Y. J. Y. (2020). *Caracterización molecular de la digestibilidad in vitro de aislados proteicos del huevo de codorniz*. Guaranda. Universidad Estatal de Bolívar. Facultad de Ciencias Aropecuarias . . .
- da Silva, E. S., Xiong, J., de Medeiros, F. G. M., Grace, M., Moncada, M., Lila, M. A., & Hoskin, R. T. (2024). Spray dried insect protein-polyphenol particles deliver health-relevant value-added food ingredients. *Future Foods*.
- Dai, Z., Lyu, W., Xie, M., Yuan, Q., Ye, H., Hu, B., . . . Zeng, X. (2017). Effects of  $\alpha$ -galactooligosaccharides from chickpeas on high-fat-diet-induced metabolic syndrome in mice. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 65(15), 3160-3166.
- Danilo, J., & Martínez, O. (2019). *Utilización de garbanzo (Cicer arietinum L.) y muña (minthostachys mollis) para la elaboración de una bebida funcional*. (Bachelor's), Universidad Nacional de Chimborazo, Riobamba, Ecuador.
- de Camargo, A. C., Favero, B. T., Morzelle, M. C., Franchin, M., Alvarez-Parrilla, E., de la Rosa, L. A., . . . Schwember, A. R. (2019). Is chickpea a potential substitute for soybean? Phenolic bioactives and potential health benefits. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(11), 2644.
- de Moraes, F. P., Pessato, T. B., Rodrigues, E., Mallmann, L. P., Mariutti, L. R., & Netto, F. M. (2020). Whey protein and phenolic compound complexation: Effects on antioxidant capacity before and after in vitro digestion. *Food Research International*, 133, 109104.
- Desalegn, B. B. (2015). Effect of soaking and germination on proximate composition, mineral bioavailability and functional properties of chickpea flour. *Food Public Health*, 5(4), 108-113.

- Di Biase, M., Bavaro, A. R., Lonigro, S. L., Pontonio, E., Conte, A., Padalino, L., . . . Valerio, F. (2019). *Lactobacillus plantarum* ITM21B fermentation product and chickpea flour enhance the nutritional profile of salt reduced bakery products. *International Journal of Food Sciences Nutrition*, 70(6), 701-713.
- Di Stefano, E., Tsopmo, A., Oliviero, T., Fogliano, V., & Udenigwe, C. C. (2019). Bioprocessing of common pulses changed seed microstructures, and improved dipeptidyl peptidase-IV and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities. *Scientific reports*, 9(1), 15308.
- Dida Bulbula, D., & Urga, K. (2018). Study on the effect of traditional processing methods on nutritional composition and anti nutritional factors in chickpea (*Cicer arietinum*). *Cogent Food Agriculture*, 4(1), 1422370.
- Domínguez-Arispuro, D.-M., Canizalez-Román, A., Reyes-Moreno, C., Milán-Noris, A.-K., Milán-Carrillo, J., Acosta-Smith, E., & Cuevas-Rodríguez, E.-O. (2021). Isoflavones from black chickpea (*Cicer arietinum* L) sprouts with antioxidant and antiproliferative activity. *Saudi journal of biological sciences*, 28(1), 1141-1146.
- Domínguez-Arispuro, D., Cuevas-Rodríguez, E., Milán-Carrillo, J., León-López, L., Gutiérrez-Dorado, R., & Reyes-Moreno, C. (2018). Optimal germination condition impacts on the antioxidant activity and phenolic acids profile in pigmented desi chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds. *Journal of Food Science Technology*, 55(2), 638-647.
- Du, S.-k., Jiang, H., Yu, X., & Jane, J.-l. (2014). Physicochemical and functional properties of whole legume flour. *LWT-Food Science Technology*, 55(1), 308-313.
- Dueñas, C. J., Slamet-Loedin, I., & Macovei, A. (2021). Transcriptomics view over the germination landscape in biofortified rice. *Genes*, 12(12), 2013.
- Dupont, D., Alric, M., Blanquet-Diot, S., Bornhorst, G., Cueva, C., Deglaire, A., . . . Lelieveld, J. (2019). Can dynamic in vitro digestion systems mimic the physiological reality? *Critical reviews in food science nutrition*, 59(10), 1546-1562.
- El-Adawy, T. A. (2002). Nutritional composition and antinutritional factors of chickpeas (*Cicer arietinum* L.) undergoing different cooking methods and germination. *Plant Foods for Human Nutrition*, 57(1), 83-97.
- Elizalde, A. d. D., Pismag Portilla, Y., & Chaparro, D. C. (2009). Antinutritional factors in eatable seeds. *Bioteconología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 7(1), 45-54.
- Ercan, P., & El, S. N. (2016). Inhibitory effects of chickpea and *Tribulus terrestris* on lipase,  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase. *Food Chemistry*, 205, 163-169.
- Espinosa-Ramírez, J., & Serna-Saldívar, S. O. (2016). Functionality and characterization of kafirin-rich protein extracts from different whole and decorticated sorghum genotypes. *Journal of Cereal Science*, 70, 57-65.
- Espinosa-Ramírez, J., & Serna-Saldívar, S. O. (2019). Wet-milled chickpea coproduct as an alternative to obtain protein isolates. *Lwt*, 115, 108468.
- Ettoumi, L. Y., & Chibane, M. (2015). Some physicochemical and functional properties of pea, chickpea and lentil whole flours. *International Food Research Journal*, 22(3), 987.
- Fang, Y., Cao, W., Xia, M., Pan, S., & Xu, X. (2017a). Study of structure and permeability relationship of flavonoids in Caco-2 cells. *Nutrients*, 9(12), 1301.
- Fang, Y., Chen, X., Luo, P., Pei, F., Kimatu, B. M., Liu, K., . . . Hu, Q. (2017b). The correlation between in vitro antioxidant activity and immunomodulatory activity of

- enzymatic hydrolysates from selenium-enriched rice protein. *Journal of food science*, 82(2), 517-522.
- FAO. (1991). Protein Quality Evaluation: Report of the Joint FAO/WHO Expert Consultation, Bethesda, Md., USA 4-8 December 1989. In (Vol. 51): Food & Agriculture Organization.
- FAOSTAT. (2023). Chickpea world production. Retrieved 11 de abril de 2023. <http://www.fao.org/faostat/>
- Ferreira, C. D., Bubolz, V. K., da Silva, J., Dittgen, C. L., Ziegler, V., de Oliveira Raphaelli, C., & de Oliveira, M. (2019). Changes in the chemical composition and bioactive compounds of chickpea (*Cicer arietinum* L.) fortified by germination. *Lwt*, 111, 363-369.
- Ferreira, R. L. U., Sena-Evangelista, K. C. M., De Azevedo, E. P., Pinheiro, F. I., Cobucci, R. N., & Pedrosa, L. F. C. (2021). Selenium in human health and gut microflora: bioavailability of selenocompounds and relationship with diseases. *Frontiers in Nutrition*, 8, 685317.
- Ferreira, T. H. B., da Silva, S. R., Munhoz, C. L., & Argandoña, E. J. S. (2020). Elaboration of biscuits type cookies with pre-treated baru (*Dipteryx alata* Vog.) pulp flour. *Journal of Food Measurement Characterization*, 14(6), 3156-3162.
- Ferrua, M., & Singh, R. (2010). Modeling the fluid dynamics in a human stomach to gain insight of food digestion. *Journal of food science*, 75(7), R151-R162.
- Flores-Silva, P. C., Berrios, J. D. J., Pan, J., Agama-Acevedo, E., Monsalve-González, A., & Bello-Pérez, L. A. (2015). Gluten-free spaghetti with unripe plantain, chickpea and maize: physicochemical, texture and sensory properties. *CyTA-Journal of Food*, 13(2), 159-166.
- Fu, Y., Li, Z., Xiao, S., Zhao, C., Zhou, K., & Cao, S. (2022). Ameliorative effects of chickpea flavonoids on redox imbalance and mitochondrial complex I dysfunction in type 2 diabetic rats. *Food function*, 13(17), 8967-8976.
- Gao, W. R., Wang, X. S., Li, J. G., Zhang, J. S., & Ma, H. (2010). Physicochemical and processing functional properties of proteins from two chinese chickpea (*Cicer arietinum* L.) Cultivars. *Journal of food processing preservation*, 34(4), 575-594.
- Gastelum-Hernández, A. C., Serrano-Sandoval, S. N., Dávila-Vega, J. P., Antunes-Ricardo, M., Serna-Saldivar, S. O., Gutiérrez-Urbe, J. A., . . . Guardado-Félix, D. (2023). Comparison of Minerals, Ferulic Acid, Antioxidant, and Anti-inflammatory Properties of Products from Raw Maize and Germinated Maize with Selenium. *ACS Food Science Technology*, 3(2), 318-325.
- Ghavidel, R. A., & Prakash, J. (2006). Effect of germination and dehulling on functional properties of legume flours. *Journal of the Science of Food Agriculture*, 86(8), 1189-1195.
- Ghavidel, R. A., & Prakash, J. (2007). The impact of germination and dehulling on nutrients, antinutrients, in vitro iron and calcium bioavailability and in vitro starch and protein digestibility of some legume seeds. *LWT-Food Science Technology*, 40(7), 1292-1299.
- Ghribi, A. M., Gafsi, I. M., Blecker, C., Danthine, S., Attia, H., & Besbes, S. (2015). Effect of drying methods on physico-chemical and functional properties of chickpea protein concentrates. *Journal of Food Engineering*, 165, 179-188.
- Gobbetti, M., De Angelis, M., Di Cagno, R., Polo, A., & Rizzello, C. G. (2020). The sourdough fermentation is the powerful process to exploit the potential of legumes,

- pseudo-cereals and milling by-products in baking industry. *Critical reviews in food science nutrition*, 60(13), 2158-2173.
- Goertzen, A. D., Nickerson, M. T., & Tanaka, T. J. C. C. (2021). The improvement of the functional properties of a chickpea protein isolate through proteolysis with three proteases. 98(3), 439-449.
- Gómez-Zorita, S., González-Arceo, M., Fernández-Quintela, A., Eseberri, I., Trepiana, J., & Portillo, M. P. (2020). Scientific evidence supporting the beneficial effects of isoflavones on human health. *Nutrients*, 12(12), 3853.
- Gonçalves, A., Estevinho, B. N., & Rocha, F. (2021). Methodologies for simulation of gastrointestinal digestion of different controlled delivery systems and further uptake of encapsulated bioactive compounds. *Trends in Food Science Technology*, 114, 510-520.
- Gonzales, G. B., Smagghe, G., Grootaert, C., Zotti, M., Raes, K., & Camp, J. V. (2015). Flavonoid interactions during digestion, absorption, distribution and metabolism: a sequential structure–activity/property relationship-based approach in the study of bioavailability and bioactivity. *Drug metabolism reviews*, 47(2), 175-190.
- González-Montoya, M., Hernández-Ledesma, B., Silván, J. M., Mora-Escobedo, R., & Martínez-Villaluenga, C. (2018). Peptides derived from in vitro gastrointestinal digestion of germinated soybean proteins inhibit human colon cancer cells proliferation and inflammation. *Food Chemistry*, 242, 75-82.
- Grasso, N., Lynch, N. L., Arendt, E. K., & O'Mahony, J. A. (2022). Chickpea protein ingredients: A review of composition, functionality, and applications. *Comprehensive Reviews in Food Science Food Safety*, 21(1), 435-452.
- Guardado-Félix, D., Antunes-Ricardo, M., Rocha-Pizaña, M. R., Martínez-Torres, A.-C., Gutiérrez-Uribe, J. A., & Saldívar, S. O. S. (2019). Chickpea (*Cicer arietinum* L.) sprouts containing supranutritional levels of selenium decrease tumor growth of colon cancer cells xenografted in immune-suppressed mice. *Journal of functional foods*, 53, 76-84.
- Guardado-Félix, D., Lazo-Vélez, M. A., Pérez-Carrillo, E., Panata-Saquicili, D. E., & Serna-Saldívar, S. O. (2020). Effect of partial replacement of wheat flour with sprouted chickpea flours with or without selenium on physicochemical, sensory, antioxidant and protein quality of yeast-leavened breads. *Lwt*, 129, 109517.
- Guardado-Félix, D., Serna-Saldívar, S. O., Cuevas-Rodríguez, E. O., Jacobo-Velázquez, D. A., & Gutiérrez-Uribe, J. A. (2017). Effect of sodium selenite on isoflavonoid contents and antioxidant capacity of chickpea (*Cicer arietinum* L.) sprouts. *Food Chemistry*, 226, 69-74.
- Gupta, N., & Bhagyawant, S. S. (2019). Enzymatic treatment improves ACE-I inhibitor and antiproliferative potential of chickpea. *Vegetos*, 32, 363-369.
- Haileslassie, H. A., Henry, C. J., & Tyler, R. T. (2016). Impact of household food processing strategies on antinutrient (phytate, tannin and polyphenol) contents of chickpeas (*Cicer arietinum* L.) and beans (*Phaseolus vulgaris* L.): a review. *International Journal of Food Science Technology*, 51(9), 1947-1957.
- Han, J., Zhang, R., Muheyati, D., Lv, M. X., Aikebaier, W., & Peng, B. X. (2021). The effect of chickpea dietary fiber on lipid metabolism and gut microbiota in high-fat diet-induced hyperlipidemia in rats. *Journal of Medicinal Food*, 24(2), 124-134.
- Hariharan, S., & Dharmaraj, S. (2020). Selenium and selenoproteins: It's role in regulation of inflammation. *Inflammopharmacology*, 28, 667-695.

- Hazafa, A., Rehman, K.-U.-., Jahan, N., & Jabeen, Z. (2020). The role of polyphenol (flavonoids) compounds in the treatment of cancer cells. *Nutrition cancer*, 72(3), 386-397.
- Heiras-Palazuelos, M. J., Ochoa-Lugo, M. I., Gutiérrez-Dorado, R., López-Valenzuela, J. A., Mora-Rochín, S., Milán-Carrillo, J., . . . Reyes-Moreno, C. (2013). Technological properties, antioxidant activity and total phenolic and flavonoid content of pigmented chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. *International Journal of Food Sciences Nutrition*, 64(1), 69-76.
- Hernández-Grijalva, M. I., Serrano-Sandoval, S. N., Gutiérrez-Urbe, J. A., Serna-Saldivar, S. O., Milán-Carrillo, J., Antunes-Ricardo, M., . . . Guardado-Félix, D. (2022). Application of protein fractions from selenized sprouted chickpeas as emulsifying agents and evaluation of their antioxidant properties. *Food Bioproducts Processing*, 136, 59-66.
- Hithamani, G., & Srinivasan, K. (2014). Bioaccessibility of polyphenols from wheat (*Triticum aestivum*), sorghum (*Sorghum bicolor*), green gram (*Vigna radiata*), and chickpea (*Cicer arietinum*) as influenced by domestic food processing. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 62(46), 11170-11179.
- Hossain, A., Skalicky, M., Brestic, M., Maitra, S., Sarkar, S., Ahmad, Z., . . . Bhatt, R. (2021). Selenium biofortification: roles, mechanisms, responses and prospects. *Molecules*, 26(4), 881.
- Huang, J., Qian, J., Wang, S., Li, Y., Zhai, X., Olajide, T. M., . . . Liao, X. (2022a). Effect of selenium biofortification on bioactive compounds and antioxidant activity in germinated black soybean. *Journal of food science*, 87(3), 1009-1019.
- Huang, Y., Fan, B., Lei, N., Xiong, Y., Liu, Y., Tong, L., . . . Blecker, C. (2022b). Selenium Biofortification of Soybean Sprouts: Effects of Selenium Enrichment on Proteins, Protein Structure, and Functional Properties. *Frontiers in Nutrition*, 9, 849928.
- Huang, Y., Lei, N., Xiong, Y., Liu, Y., Tong, L., Wang, F., . . . Blecker, C. (2022c). Influence of selenium biofortification of soybeans on speciation and transformation during seed germination and sprouts quality. *Foods*, 11(9), 1200.
- Ibrikci, H., Knewton, S. J., & Grusak, M. A. (2003). Chickpea leaves as a vegetable green for humans: evaluation of mineral composition. *Journal of the Science of Food Agriculture*, 83(9), 945-950.
- Imran, M., Chen, Z., Mehmood, A., Rukh, S., Weixie, W., Asghar, W., & Iftikhar, F. (2023). Distribution of Selenium in Soils and Human Health.
- Intelligence, M. (2023). Protein market- Size, Share, Covid-19 Impact & Forecasts up to 2029. <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/global-protein-market>
- Isaacson, T., Damasceno, C. M., Saravanan, R. S., He, Y., Catalá, C., Saladié, M., & Rose, J. K. (2006). Sample extraction techniques for enhanced proteomic analysis of plant tissues. *Nature protocols*, 1(2), 769-774.
- Ismail, B. P., Senaratne-Lenagala, L., Stube, A., & Brackenridge, A. (2020). Protein demand: Review of plant and animal proteins used in alternative protein product development and production. *Animal Frontiers*, 10(4), 53-63.
- Jagannadham, K., Parimalavalli, R., Babu, A. S., & Rao, J. S. (2014). A study on comparison between cereal (wheat) and non cereal (chickpea) flour characteristics. *International Journal Current Trend Research*, 3(2), 70-76.
- Jakobek, L. (2015). Interactions of polyphenols with carbohydrates, lipids and proteins. *Food Chemistry*, 175, 556-567.

- Jia, X., Chen, J., Lin, H., & Hu, M. (2004). Disposition of flavonoids via enteric recycling: enzyme-transporter coupling affects metabolism of biochanin A and formononetin and excretion of their phase II conjugates. *Journal of pharmacology experimental therapeutics*, 310(3), 1103-1113.
- Josefina, C., Morales de León, M., Cassís, L., Nosthas, L., & García Beltrán, G. (2003). Elaboración de un queso tipo "cotija" con base en una mezcla de leche y garbanzo (*Cicer arietinum* L.). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 53(2), 202-207.
- Juárez-Chairez, M., Meza-Márquez, O., Márquez-Flores, Y. K., Jiménez-Martínez, C., & Osorio-Revilla, G. (2022). In vitro anti-inflammatory and antioxidant activity of chickpea (*Cicer arietinum* L.) proteins hydrolysate fractions. *Biotecnia*, 24(2), 59-68.
- Juárez-Chairez, M. F., Cid-Gallegos, S., Meza-Márquez, O. G., & Jiménez-Martínez, C. (2020). Biological activities of chickpea in human health (*Cicer arietinum* L.). A review. *Plant Foods for Human Nutrition*, 75(2), 142-153.
- Jukanti, A. K., Gaur, P. M., Gowda, C., & Chibbar, R. N. (2012). Nutritional quality and health benefits of chickpea (*Cicer arietinum* L.): a review. *British Journal of Nutrition*, 108(S1), S11-S26.
- Kang, S., Xu, Y., Zhang, Y., Gao, P., Guan, Y., Ku, S., . . . Li, H. (2023). Modulation of gut microbiota by chickpea-derived proteins and peptides with antioxidant capabilities. *Lwt*, 187, 115341.
- Karaś, M., Jakubczyk, A., Szymanowska, U., Złotek, U., & Zielińska, E. (2017). Digestion and bioavailability of bioactive phytochemicals. *International Journal of Food Science Technology*, 52(2), 291-305.
- Kaur, M., Singh, N., & Sodhi, N. S. (2005). Physicochemical, cooking, textural and roasting characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. *Journal of Food Engineering*, 69(4), 511-517.
- Kaur, M., & Singh, N. J. F. c. (2007). Characterization of protein isolates from different Indian chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. *102*(1), 366-374.
- Kaur, R., & Prasad, K. (2021). Technological, processing and nutritional aspects of chickpea (*Cicer arietinum*)-A review. *Trends in Food Science Technology*, 109, 448-463.
- Kazi Tani, L. S., Dennouni-Medjati, N., Toubhans, B., & Charlet, L. (2020). Selenium Deficiency—From Soil to Thyroid Cancer. *Applied Sciences*, 10(15), 5368.
- Ketel, E. C., Aguayo-Mendoza, M. G., de Wijk, R. A., de Graaf, C., Piqueras-Fiszman, B., & Stieger, M. (2019). Age, gender, ethnicity and eating capability influence oral processing behaviour of liquid, semi-solid and solid foods differently. *Food Research International*, 119, 143-151.
- Khatiwada, S., & Subedi, A. (2021). A mechanistic link between selenium and coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Current Nutrition Reports*, 10, 125-136.
- Kieliszek, M. (2019). Selenium—fascinating microelement, properties and sources in food. *Molecules*, 24(7), 1298.
- Kim, J., Chung, H. S., Choi, M.-K., Roh, Y. K., Yoo, H. J., Park, J. H., . . . Moon, S. (2019). Association between serum selenium level and the presence of diabetes mellitus: a meta-analysis of observational studies. *Diabetes metabolism journal*, 43(4), 447-460.
- Kim, M.-S., Jung, Y. S., Jang, D., Cho, C. H., Lee, S.-H., Han, N. S., & Kim, D.-O. (2022). Antioxidant capacity of 12 major soybean isoflavones and their bioavailability under simulated digestion and in human intestinal Caco-2 cells. *Food Chemistry*, 374, 131493.

- Kipp, A. P., Strohm, D., Brigelius-Flohé, R., Schomburg, L., Bechthold, A. e., Leschik-Bonnet, E., . . . Society, G. N. (2015). Revised reference values for selenium intake. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, *32*, 195-199.
- Kiremidjian-Schumacher, L., & Roy, M. (2001). Effect of selenium on the immunocompetence of patients with head and neck cancer and on adoptive immunotherapy of early and established lesions. *Biofactors*, *14*(1-4), 161-168.
- Klongklaew, A., Banwo, K., Soodsawaeng, P., Christopher, A., Khanongnuch, C., Sarkar, D., & Shetty, K. (2022). Lactic acid bacteria based fermentation strategy to improve phenolic bioactive-linked functional qualities of select chickpea (*Cicer arietinum* L.) varieties. *NFS Journal*, *27*, 36-46.
- Knights, E., & Hobson, K. (2016). Chickpea overview. *Food Science*. doi:http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.00035-4
- Kole, L., Giri, B., Manna, S. K., Pal, B., & Ghosh, S. (2011). Biochanin-A, an isoflavon, showed anti-proliferative and anti-inflammatory activities through the inhibition of iNOS expression, p38-MAPK and ATF-2 phosphorylation and blocking NFκB nuclear translocation. *European journal of pharmacology*, *653*(1-3), 8-15.
- Kumar, Y., Sharanagat, V. S., Singh, L., Gundev, P., Mani, S., & Nema, P. K. (2020a). Qualitative Analysis of Roasted and Germinated Green Chickpea for Snack Food: Proximate, Functional and Pasting Properties. *Journal of Agricultural Engineering*, *53*(3), 226.
- Kumar, Y., Sharanagat, V. S., Singh, L., & Mani, S. (2020b). Effect of germination and roasting on the proximate composition, total phenolics, and functional properties of black chickpea (*Cicer arietinum*). *Legume Science*, *2*(1), e20.
- Kumaraguru, V., & Rajkumar, M. (2011). Beneficial influences of germination and subsequent autoclaving of grain legumes on proximate composition, antinutritional factors and apparent digestibility in black tiger shrimp, *Penaeus monodon* Fabricius. *Aquaculture Nutrition*, *17*(2), e188-e195.
- Kumari, U. (2023). Chickpea (*Cicer arietinum* L.): Nutrition beyond protein, bioactives and associated health benefits. *Pharma Innovation Journal*.
- Kuršvietienė, L., Mongirdienė, A., Bernatoniene, J., Šulinskienė, J., & Stanevičienė, I. (2020). Selenium anticancer properties and impact on cellular redox status. *Antioxidants*, *9*(1), 80.
- Ladjal-Ettoumi, Y., Boudries, H., Chibane, M., & Romero, A. (2016). Pea, chickpea and lentil protein isolates: Physicochemical characterization and emulsifying properties. *Food Biophysics*, *11*(1), 43-51.
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *nature*, *227*(5259), 680-685.
- Lazo-Vélez, M. A., Chávez-Santoscoy, A., & Serna-Saldivar, S. O. (2015). Selenium-enriched breads and their benefits in human nutrition and health as affected by agronomic, milling, and baking factors. *Cereal Chemistry*, *92*(2), 134-144.
- Lazo-Vélez, M. A., Guajardo-Flores, D., Mata-Ramírez, D., Gutiérrez-Urbe, J. A., & Serna-Saldivar, S. O. (2016). Characterization and quantitation of triterpenoid saponins in raw and sprouted *Chenopodium berlandieri* spp.(Huauzontle) grains subjected to germination with or without selenium stress conditions. *Journal of food science*, *81*(1), C19-C26.

- Le Bourvellec, C., & Renard, C. M. (2012). Interactions between polyphenols and macromolecules: Quantification methods and mechanisms. *Critical reviews in food science nutrition*, 52(3), 213-248.
- Leblondel, G., Mauras, Y., Cailleux, A., & Allain, P. (2001). Transport measurements across Caco-2 monolayers of different organic and inorganic selenium: influence of sulfur compounds. *Biological Trace Element Research*, 83, 191-206.
- Lee, S.-J., Ahn, J.-K., Khanh, T.-D., Chun, S.-C., Kim, S.-L., Ro, H.-M., . . . Chung, I.-M. (2007). Comparison of isoflavone concentrations in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) sprouts grown under two different light conditions. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 55(23), 9415-9421.
- Legg, R. L., Tolman, J. R., Lovinger, C. T., Lephart, E. D., Setchell, K. D., & Christensen, M. J. (2008). Diets high in selenium and isoflavones decrease androgen-regulated gene expression in healthy rat dorsolateral prostate. *Reproductive Biology Endocrinology*, 6, 1-12.
- Li, C., Yu, W., Wu, P., & Chen, X. D. (2020). Current in vitro digestion systems for understanding food digestion in human upper gastrointestinal tract. *Trends in Food Science Technology*, 96, 114-126.
- Li, C. P., He, Z., Wang, X., Yang, L., Yin, C., Zhang, N., . . . Zhao, H. (2014). Selenization of ovalbumin by dry-heating in the presence of selenite: Effect on protein structure and antioxidant activity. *Food chemistry*, 148, 209-217.
- Li, P., Lu, B., Gong, J., Li, L., Chen, G., Zhang, J., . . . Guo, Y. (2021). Chickpea extract ameliorates metabolic syndrome symptoms via restoring intestinal ecology and metabolic profile in type 2 diabetic rats. *Molecular Nutrition Food Research*, 65(13), 2100007.
- López-Barrios, L., Antunes-Ricardo, M., & Gutiérrez-Urbe, J. A. (2016). Changes in antioxidant and antiinflammatory activity of black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) protein isolates due to germination and enzymatic digestion. *Food Chemistry*, 203, 417-424.
- López-Barrios, L., Heredia-Olea, E., Heredia-Olea, D., Pérez-Carrillo, E., & Gutiérrez, J. A. (2018). Bioactive peptides by in vitro digestion of germinated bean cotyledons exudates. *Journal of Food Research*, 7(1), 76-85.
- López-García, G., Dublan-García, O., Arizmendi-Cotero, D., & Gómez Oliván, L. M. (2022). Antioxidant and antimicrobial peptides derived from food proteins. *Molecules*, 27(4), 1343.
- López, A. M. d. J. (2016). *Elaboración de tres embutidos a base de soja texturizada y garbanzo*. (Doctoral), Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas.
- Loscalzo, J. (2014). Keshan disease, selenium deficiency, and the selenoproteome. *New England Journal of Medicine*, 370(18), 1756-1760.
- Lozoya-Agullo, I., Araujo, F., Gonzalez-Alvarez, I., Merino-Sanjuan, M., Gonzalez-Alvarez, M., Bermejo, M., & Sarmiento, B. (2017). Usefulness of Caco-2/HT29-MTX and Caco-2/HT29-MTX/Raji B coculture models to predict intestinal and colonic permeability compared to Caco-2 monoculture. *Molecular pharmaceutics*, 14(4), 1264-1270.
- Luo, L.-Y., Fan, M.-X., Zhao, H.-Y., Li, M.-X., Wu, X., & Gao, W.-Y. (2018). Pharmacokinetics and bioavailability of the isoflavones formononetin and ononin and

- their in vitro absorption in ussing chamber and Caco-2 cell models. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 66(11), 2917-2924.
- Luzardo-Ocampo, I., Campos-Vega, R., Gaytán-Martínez, M., Preciado-Ortiz, R., Mendoza, S., & Loarca-Piña, G. (2017). Bioaccessibility and antioxidant activity of free phenolic compounds and oligosaccharides from corn (*Zea mays* L.) and common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) chips during in vitro gastrointestinal digestion and simulated colonic fermentation. *Food Research International*, 100, 304-311.
- Ma, Z., Boye, J. I., & Simpson, B. K. (2016). Preparation of salad dressing emulsions using lentil, chickpea and pea protein isolates: a response surface methodology study. *Journal of Food Quality*, 39(4), 274-291.
- Männle, H., Momm, F., & Münstedt, K. (2020). Vitamin D and selenium blood levels and acute skin toxicity during radiotherapy for breast cancer. *Complementary Therapies in Medicine*, 49, 102291.
- Maray, A. R. M. (2023). Physicochemical and Functional Properties, Nutritional Value and Bioactive Compounds of Some Composite Flours. *Assiut Journal of Agricultural Sciences*, 54(1), 116-131.
- Mariscal-Moreno, R. M., Figueroa-Cárdenas, J. d. D., Santiago-Ramos, D., Aguilar Arteaga, K., Flores Casamayor, V., & Rincón-Aguirre, A. (2021). Chemical, thermal and structural properties of alkaline-cooked (nixtamalised) chickpea (*Cicer arietinum*) flours. *International Journal of Food Science Technology*, 56(7), 3474-3483.
- Martínez Augustin, O., & Martínez de Victoria, E. (2006). Proteínas y péptidos en nutrición enteral. *Nutrición hospitalaria*, 21, 01-14.
- Mascareño-Montoya, E., Milán-Noris, E. M., Guardado-Félix, D., Sandoval-Sicairos, E. S., Montoya-Rodriguez, A., & Milán-Noris, A. K. (2024). Cambios durante el bioprocésamiento de garbanzo pigmentado con selenito de sodio sobre el perfil de proteínas y el contenido de proteína soluble y fenólicos totales. (Maestría), Universidad Autónoma de Sinaloa,
- Masood, T., Shah, H., & Zeb, A. (2014). Effect of sprouting time on proximate composition and ascorbic acid level of mung bean (*Vigna radiate* L.) and chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds. *Journal of Animal Plant Sciences*, 24(3).
- Mathew, S. E., Shakappa, D., & Rengel, Z. (2022). A review of the nutritional and antinutritional constituents of chickpea (*Cicer arietinum*) and its health benefits. *Crop Pasture Science*, 73(4), 401-414.
- Matvveyeva, S. (2021). Influence of sodium selenite on immunological indexes of tuberculosis patients with diabetes mellitus and autoimmune thyroiditis. *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale*, 69(1), 55-59.
- McClements, D. J. (2015). Enhancing nutraceutical bioavailability through food matrix design. *Current opinion in food science*, 4, 1-6.
- Megías, C., Cortés-Giraldo, I., Alaiz, M., Vioque, J., & Girón-Calle, J. (2016). Isoflavones in chickpea (*Cicer arietinum*) protein concentrates. *Journal of functional foods*, 21, 186-192.
- Mertens, K., Lowes, D., Webster, N., Talib, J., Hall, L., Davies, M., . . . Galley, H. (2015). Low zinc and selenium concentrations in sepsis are associated with oxidative damage and inflammation. *British Journal of Anaesthesia*, 114(6), 990-999.
- Mesfin, N., Belay, A., & Amare, E. (2021). Effect of germination, roasting, and variety on physicochemical, techno-functional, and antioxidant properties of chickpea (*Cicer arietinum* L.) protein isolate powder. *Heliyon*, 7(9), e08081.

- Milán-Noris, A. K., Gutierrez-Uribe, J. A., Santacruz, A., Serna-Saldivar, S. O., & Martinez-Villaluenga, C. (2018). Peptides and isoflavones in gastrointestinal digests contribute to the anti-inflammatory potential of cooked or germinated desi and kabuli chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Food Chem*, 268, 66-76. doi:10.1016/j.foodchem.2018.06.068
- Milán-Noris, A. K., Gutierrez-Uribe, J. A., & Serna-Saldivar, S. O. (2023). Influence of soaking and boiling on flavonoids and saponins of nine desi chickpea cultivars with potential antiproliferative effects. *Journal of Food Measurement Characterization*, 1-9.
- Milán-Noris, A. K., De la Rosa-Millan, J., & Serna-Saldivar, S. O. (2019). Comparative analysis of techno-functional properties, starch digestion and protein quality of pigmented chickpea flours. *International Journal of Food Science Technology*, 54(6), 2288-2299.
- Milán Noris, A. K. (2017). Nutraceutical properties of isolated starch, phytochemical compounds and bioactive peptides from pigmented chickpea cultivars influenced by cooking or germination process.
- Moghaddam, A., Heller, R. A., Sun, Q., Seelig, J., Cherkezov, A., Seibert, L., . . . Pilz, M. (2020). Selenium deficiency is associated with mortality risk from COVID-19. *Nutrients*, 12(7), 2098.
- Mohan, N., & Mellem, J. J. (2020). Functional properties of the protein isolates of hyacinth bean [*Lablab purpureus* (L.) Sweet]: An effect of the used procedures. *Lwt*, 129, 109572.
- Morales de León, J. C., Nosthas, C., Lorena, M., & Cortés Penedo, E. (2000). Elaboración de un yogurt con base en una mezcla de leche y garbanzo (*Cicer arietinum*). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 50(1), 81-86.
- Muzquiz, M., Varela, A., Burbano, C., Cuadrado, C., Guillamón, E., & Pedrosa, M. M. (2012). Bioactive compounds in legumes: pronutritive and antinutritive actions. Implications for nutrition and health. *Phytochemistry reviews*, 11(2), 227-244.
- Naderi, M., Puar, P., Zonouzi-Marand, M., Chivers, D. P., Niyogi, S., & Kwong, R. W. (2021). A comprehensive review on the neuropathophysiology of selenium. *Science of the Total Environment*, 767, 144329.
- Narod, S. A., Huzarski, T., Jakubowska, A., Gronwald, J., Cybulski, C., Oszurek, O., . . . Białkowska, K. (2019). Serum selenium level and cancer risk: a nested case-control study. *Hereditary cancer in clinical practice*, 17(1), 1-7.
- Navarro-Leyva, A., López-Angulo, G., Delgado-Vargas, F., & López-Valenzuela, J. Á. (2023). Antioxidant, anti-inflammatory, hypoglycemic, and anti-hyperglycemic activity of chickpea protein hydrolysates evaluated in BALB-c mice. *Journal of Food Science*.
- Newton, A., & Majumder, K. (2023). Germination and Simulated Gastrointestinal Digestion of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) in Exhibiting In Vitro Antioxidant Activity in Gastrointestinal Epithelial Cells. *Antioxidants*, 12(5), 1114.
- Ohanenye, I. C., Tsopmo, A., Ejike, C. E., & Udenigwe, C. C. (2020). Germination as a bioprocess for enhancing the quality and nutritional prospects of legume proteins. *Trends in Food Science Technology*, 101, 213-222.
- Onder, S., Can Karaca, A., Ozcelik, B., Alamri, A. S., Ibrahim, S. A., & Galanakis, C. M. (2022). Exploring the Amino-Acid Composition, Secondary Structure, and Physicochemical and Functional Properties of Chickpea Protein Isolates. *ACS omega*, 8(1), 1486-1495.

- Oner, P., Er, B., Orhan, C., & Sahin, K. (2023). Combination of phycocyanin, zinc, and selenium improves survival rate and inflammation in the lipopolysaccharide-galactosamine mouse model. *Biological Trace Element Research*, 201(3), 1377-1387.
- Oomah, B. D., Patras, A., Rawson, A., Singh, N., & Compos-Vega, R. (2011). Chemistry of pulses. *Pulse foods: processing, quality nutraceutical applications*, 9-55.
- Oropeza-Moe, M., Wisløff, H., & Bernhoft, A. (2015). Selenium deficiency associated porcine and human cardiomyopathies. *Journal of Trace Elements in Medicine Biology*, 31, 148-156.
- Ortega-Hernández, E. (2022). *Effect of osmotic conditions and germination time on the content and profile of glucosinolates, carotenoids and phenolic compounds in kale, and their antioxidant and anti-inflammatory properties.*, Technological Institute and Higher Studies of Monterrey,
- Ouazib, M., Moussou, N., Oomah, B. D., Zaidi, F., & Wanasundara, J. P. (2015). Effect of processing and germination on nutritional parameters and functional properties of chickpea (*Cicer arietinum* L.) from Algeria. *Journal of Food Legumes*, 28(2), 35-42.
- Papadopoulou, A., & Frazier, R. A. (2004). Characterization of protein–polyphenol interactions. *Trends in Food Science Technology*, 15(3-4), 186-190.
- Papalamprou, E., Doxastakis, G., Biliaderis, C., & Kiosseoglou, V. (2009). Influence of preparation methods on physicochemical and gelation properties of chickpea protein isolates. *Food Hydrocolloids*, 23(2), 337-343.
- Paredes-López, O., Ordorica-Falomir, C., & Olivares-Vázquez, M. (1991). Chickpea protein isolates: physicochemical, functional and nutritional characterization. *Journal of food science*, 56(3), 726-729.
- Patti, F., Fiore, M., Chisari, C. G., D'Amico, E., Fermo, S. L., Toscano, S., . . . Zappia, M. (2020). CSF neurotoxic metals/metalloids levels in amyotrophic lateral sclerosis patients: Comparison between bulbar and spinal onset. *Environmental Research*, 188, 109820.
- Penchalaraju, M., & John Don Bosco, S. (2022). Legume protein concentrates from green gram, cowpea, and horse gram. *Journal of Food Processing Preservation*, 46(4), e16477.
- Pérez-Ramírez, I. F., Escobedo-Alvarez, D. E., Mendoza-Sánchez, M., Rocha-Guzmán, N. E., Reynoso-Camacho, R., Acosta-Gallegos, J. A., & Ramos-Gómez, M. (2023). Phytochemical Profile and Composition of Chickpea (*Cicer arietinum* L.): Varietal Differences and Effect of Germination under Elicited Conditions. *Plants*, 12(17), 3093.
- Peydayesh, M., Bagnani, M., Soon, W. L., & Mezzenga, R. (2022). Turning food protein waste into Sustainable Technologies. *Chemical Reviews*, 123(5), 2112-2154.
- Pirola, I., Rotondi, M., Cristiano, A., Maffezzoni, F., Pasquali, D., Marini, F., . . . Chiovato, L. (2020). Selenium supplementation in patients with subclinical hypothyroidism affected by autoimmune thyroiditis: Results of the SETI study. *Endocrinología, Diabetes y Nutrición*, 67(1), 28-35.
- Prasad, R., & Shivay, Y. S. (2022). Selenium in human and animal nutrition and need for selenium fertilization of crops. *Indian journal of agricultural sciences*, 92(4), 431-437.
- Qi, Y., Xie, L., Deng, Z., Zhang, B., & Li, H. (2023). Stability and antioxidant activity of 10 isoflavones and anthocyanidins during in vitro digestion. *Food Bioscience*, 56, 103189.
- Quintero-Soto, M. F., Saracho-Peña, A. G., Chavez-Ontiveros, J., Garzon-Tiznado, J. A., Pineda-Hidalgo, K. V., Delgado-Vargas, F., & Lopez-Valenzuela, J. A. (2018). Phenolic profiles and their contribution to the antioxidant activity of selected chickpea

- genotypes from Mexico and ICRISAT collections. *Plant Foods for Human Nutrition*, 73(2), 122-129.
- Rachwa-Rosiak, D., Nebesny, E., & Budryn, G. (2015). Chickpeas—composition, nutritional value, health benefits, application to bread and snacks: a review. *Critical reviews in food science nutrition*, 55(8), 1137-1145.
- Radlowski, C., & de Mejia, E. G. (2022). Chickpea Protein Hydrolysate Ameliorates the Impact of Feeding a High-Fat-Diet-Induced Obesity in Mice by Modulating Inflammation. *Current Developments in Nutrition*, 6, 6009328.
- Ramani, A., Kushwaha, R., Malaviya, R., Kumar, R., & Yadav, N. (2021). Molecular, functional and nutritional properties of chickpea (*Cicer arietinum* L.) protein isolates prepared by modified solubilization methods. *Journal of Food Measurement Characterization*, 15, 2352-2368.
- Rasool, S., Latef, A. A. H. A., & Ahmad, P. (2015). Chickpea: role and responses under abiotic and biotic stress. *Legumes under environmental stress: yield, improvement adaptations*, 67-79.
- Raza, H., Sharif, H. R., Zaaboul, F., Shoaib, M., Aboshora, W., Ali, B., & Zhang, L.-f. (2020). Effect of chickpeas (*Cicer arietinum*) germination under minerals stress on the content of isoflavones and functional properties. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*.
- Raza, H., Zaaboul, F., Shoaib, M., & Zhang, L. (2019). An overview of physicochemical composition and methods used for chickpeas processing. *International Journal of Agriculture Innovations Research*, 7(5), 495-500.
- Razaghi, A., Poorebrahim, M., Sarhan, D., & Björnstedt, M. (2021). Selenium stimulates the antitumour immunity: Insights to future research. *European Journal of Cancer*, 155, 256-267.
- Real, H. L. M., & Gonzalez, d. M. E. (2019). Enzymatic production, bioactivity, and bitterness of chickpea (*Cicer arietinum*) peptides. *Comprehensive Reviews in Food Science Food Safety*, 18(6), 1913-1946.
- Rebello, C. J., Greenway, F. L., & Finley, J. W. (2014). Whole grains and pulses: A comparison of the nutritional and health benefits. *Journal of agricultural food chemistry*, 62(29), 7029-7049.
- Reis, A. R. d., El-Ramady, H., Santos, E. F., Gratão, P. L., & Schomburg, L. (2017). Overview of selenium deficiency and toxicity worldwide: affected areas, selenium-related health issues, and case studies. In *Selenium in plants* (pp. 209-230): Springer.
- Rocchetti, G., Gregorio, R. P., Lorenzo, J. M., Barba, F. J., Oliveira, P. G., Prieto, M. A., . . . Tomas, M. (2022). Functional implications of bound phenolic compounds and phenolics–food interaction: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science Food Safety*, 21(2), 811-842.
- Rocha, L., Silva, E., Pavia, I., Ferreira, H., Matos, C., Osca, J. M., . . . Lima-Brito, J. (2022). Seed Soaking with Sodium Selenate as a Biofortification Approach in Bread Wheat: Effects on Germination, Seedling Emergence, Biomass and Responses to Water Deficit. *Agronomy*, 12(8), 1975.
- Rochfort, S., & Panozzo, J. (2007). Phytochemicals for health, the role of pulses. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 55(20), 7981-7994.
- Rochín-Medina, J. J., Milán-Carrillo, J., Gutiérrez-Dorado, R., Cuevas-Rodríguez, E. O., Mora-Rochín, S., Valdez-Ortiz, A., . . . Reyes-amoreno, C. (2015). Bebida funcional de valor nutricional/nutracéutico alto elaborada a partir de una mezcla de granos

- integrales (maíz+ garbanzo) extrudidos. *Revista Iberoamericana de Ciencias*, 2(1), 51-65.
- Rodríguez-Martin, N. M., Marquez, J. C., Villanueva, Á., Millán, F., Millán-Linares, M. d. C., & Pedroche, J. (2022). *Antioxidant Properties of Chickpea (Cicer arietinum L.) Protein Hydrolysates: The In Vitro Evaluation of SOD Activity in THP-1 Cell Line*. Paper presented at the Biology and Life Sciences Forum.
- Rua, R. M., Nogales, F., Carreras, O., & Ojeda, M. L. (2023). Selenium, selenoproteins and cancer of the thyroid. *Journal of Trace Elements in Medicine Biology*, 76, 127115.
- Ryan, E., Galvin, K., O'Connor, T. P., Maguire, A. R., & O'Brien, N. M. (2007). Phytosterol, squalene, tocopherol content and fatty acid profile of selected seeds, grains, and legumes. *Plant Foods for Human Nutrition*, 62(3), 85-91.
- Rzymiski, P., Mleczek, M., Niedzielski, P., Siwulski, M., & Gąsecka, M. (2016). Potential of cultivated *Ganoderma lucidum* mushrooms for the production of supplements enriched with essential elements. *Journal of Food Science*, 81(3), C587-C592.
- Sachdev, N., Goomer, S., & Singh, L. R. (2021). Foxtail millet: a potential crop to meet future demand scenario for alternative sustainable protein. *Journal of the Science of Food Agriculture*, 101(3), 831-842.
- Sakare, P., Jadhav, M., & John, H. (2020). Study on physical properties of soaked soybean and functional properties of germinated soy flour. *Journal of The Institution of Engineers : Series A*, 101, 787-794.
- Salazar-Montoya, V., Milán Noris, A. K., Sandoval-Sicairos, E. S., Guardado-Félix, D., & Argüelles-López, O. D. (2023). *Impacto de la germinación-selenización, el método de concentración de proteína y secado sobre propiedades fisicoquímicas, tecnofuncionales, nutracéuticas y capacidad antioxidante en concentrados proteicos de garbanzo desi verde*. (Licenciatura), Universidad Autónoma de Sinaloa,
- Salunkhe, D. K., & Kadam, S. (1989). CRC handbook of world food legumes: nutritional chemistry, processing technology, and utilization.
- Sánchez-Chino, X. M., Jiménez Martínez, C., León-Espinosa, E. B., Garduño-Siciliano, L., Álvarez-González, I., Madrigal-Bujaidar, E., . . . Dávila-Ortiz, G. (2019). Protective effect of chickpea protein hydrolysates on colon carcinogenesis associated with a hypercaloric diet. *Journal of the American College of Nutrition*, 38(2), 162-170.
- Sánchez-Vioque, R., Clemente, A., Vioque, J., Bautista, J., & Millán, F. (1999). Protein isolates from chickpea (*Cicer arietinum* L.): chemical composition, functional properties and protein characterization. *Food Chemistry*, 64(2), 237-243.
- Sandoval-Sicairos, E. S., Milán-Noris, A. K., Luna-Vital, D. A., Milán-Carrillo, J., & Montoya-Rodríguez, A. (2021). Anti-inflammatory and antioxidant effects of peptides released from germinated amaranth during in vitro simulated gastrointestinal digestion. *Food Chemistry*, 343, 128394.
- Santos, D. I., Saraiva, J. M. A., Vicente, A. A., & Moldão-Martins, M. (2019). Methods for determining bioavailability and bioaccessibility of bioactive compounds and nutrients. In *Innovative thermal and non-thermal processing, bioaccessibility and bioavailability of nutrients and bioactive compounds* (pp. 23-54): Elsevier.
- Sathe, S., Deshpande, S., & Salunkhe, D. (1982). Functional properties of winged bean [*Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC] proteins. *Journal of food science*, 47(2), 503-509.

- Schomburg, L. (2021). Selenium deficiency due to diet, pregnancy, severe illness, or covid-19—A preventable trigger for autoimmune disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(16), 8532.
- Schoultz, I., & Keita, A. V. (2020). The intestinal barrier and current techniques for the assessment of gut permeability. *Cells*, 9(8), 1909.
- Sensoy, I. (2021). A review on the food digestion in the digestive tract and the used in vitro models. *Current research in food science*, 4, 308-319.
- Serrano-Sandoval, S. N., Guardado-Félix, D., & Gutiérrez-Urbe, J. A. (2019). Changes in digestibility of proteins from chickpeas (*Cicer arietinum* L.) germinated in presence of selenium and antioxidant capacity of hydrolysates. *Food Chemistry*, 285, 290-295.
- Serrano-Sandoval, S. N., Guardado-Félix, D., & Gutiérrez-Urbe, J. A. (2022). Deglycosylation of isoflavones in selenized germinated chickpea flours due to convection drying. *Lwt*, 153.
- Shi, L., Arntfield, S. D., & Nickerson, M. (2018). Changes in levels of phytic acid, lectins and oxalates during soaking and cooking of Canadian pulses. *Food Research International*, 107, 660-668.
- Shimada, B. K., Swanson, S., Toh, P., & Seale, L. A. (2022). Metabolism of selenium, selenocysteine, and selenoproteins in ferroptosis in solid tumor cancers. *Biomolecules*, 12(11), 1581.
- Shin, J.-S., Peng, L., Kang, K., & Choi, Y. (2016). Direct analysis of prostaglandin-E2 and-D2 produced in an inflammatory cell reaction and its application for activity screening and potency evaluation using turbulent flow chromatography liquid chromatography-high resolution mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1463, 128-135.
- SIAP, S. d. I. A. y. P. J. (2022). Avance de Siembras y Cosechas. Resumen nacional por estado. Retrieved 14 de marzo de 2023 <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
- Simões, S. (2017). L. de, Madalena, DA, Pinheiro, AC, Teixeira, JA, Vicente, AA, & Ramos, ÓL (2017). Micro-and nano bio-based delivery systems for food applications: In vitro behavior. *Advances in Colloid Interface Science*, 243, 23-45.
- Singh, N., Kaur, M., & Sandhu, K. S. (2005). Physicochemical and functional properties of freeze-dried and oven dried corn gluten meals. *Advances in Colloid Interface Science*, 23(4), 975-988.
- Singh, U., & Jambunathan, R. (1981). Studies on desi and kabull chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars: levels of protease inhibitors, levels of polyphenolic compounds and in vitro protein digestibility. *Journal of food science*, 46(5), 1364-1367.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In *Methods in enzymology* (Vol. 299, pp. 152-178): Elsevier.
- Sobolev, O., Gutyj, B., Sobolieva, S., Borshch, O., Nedashkivsky, V., Kachan, L., . . . Stovbetska, L. (2020). Selenium in natural environment and food chains. A Review. *Ukrainian Journal of Ecology*, 10(4), 148-158.
- Sofi, S. A., Rafiq, S., Singh, J., Mir, S. A., Sharma, S., Bakshi, P., . . . Dar, B. (2023). Impact of germination on structural, physicochemical, techno-functional, and digestion properties of desi chickpea (*Cicer arietinum* L.) flour. *Food Chemistry*, 405, 135011.
- Sofi, S. A., Singh, J., Muzaffar, K., & Dar, B. (2021). Effect of germination time on physicochemical, electrophoretic, rheological, and functional performance of chickpea protein isolates. *ACS Food Science Technology*, 1(5), 802-812.

- Sofi, S. A., Singh, J., Muzaffar, K., Mir, S. A., & Dar, B. (2020). Effect of germination time on physico-chemical, functional, pasting, rheology and electrophoretic characteristics of chickpea flour. *Journal of Food Measurement Characterization*, *14*(5), 2380-2392.
- Sousa, R., Portmann, R., Dubois, S., Recio, I., & Egger, L. (2020). Protein digestion of different protein sources using the INFOGEST static digestion model. *Food Research International*, *130*, 108996.
- Steinbrenner, H., Duntas, L. H., & Rayman, M. P. (2022). The role of selenium in type-2 diabetes mellitus and its metabolic comorbidities. *Redox Biology*, *50*, 102236.
- Summo, C., De Angelis, D., Ricciardi, L., Caponio, F., Lotti, C., Pavan, S., & Pasqualone, A. (2019). Nutritional, physico-chemical and functional characterization of a global chickpea collection. *Journal of Food Composition Analysis*, *84*, 103306.
- Sun, Q., Hackler, J., Hilger, J., Gluschke, H., Muric, A., Simmons, S., . . . Siegert, E. (2020a). Selenium and copper as biomarkers for pulmonary arterial hypertension in systemic sclerosis. *Nutrients*, *12*(6), 1894.
- Sun, X., Acquah, C., Aluko, R. E., & Udenigwe, C. C. (2020b). Considering food matrix and gastrointestinal effects in enhancing bioactive peptide absorption and bioavailability. *Journal of Functional Foods*, *64*, 103680.
- Sun, Y., Ye, H., Hu, B., Wang, W., Lei, S., Wang, X., . . . Zeng, X. (2015). Changes in crystal structure of chickpea starch samples during processing treatments: An X-ray diffraction and starch moisture analysis study. *Carbohydrate polymers*, *121*, 169-174.
- Tan, Y., Zhang, Z., Zhou, H., Xiao, H., & McClements, D. J. (2020). Factors impacting lipid digestion and  $\beta$ -carotene bioaccessibility assessed by standardized gastrointestinal model (INFOGEST): oil droplet concentration. *Food function*, *11*(8), 7126-7137.
- Thilakarathna, S. H., & Rupasinghe, H. V. (2013). Flavonoid bioavailability and attempts for bioavailability enhancement. *Nutrients*, *5*(9), 3367-3387.
- Tiznado, J. A. G., Palazuelos, M. d. J. H., Moreno, R. J. E., Campos, M. C., Vargas, F. D., Dorado, R. G., . . . Moreno, C. R. (2013). Antioxidant and antimutagenic activities of optimized extruded desi chickpea (*Cicer arietinum* L) flours. *Journal of Pharmacy Nutrition Sciences*, *3*(1), 38-47.
- Toews, R., & Wang, N. (2013). Physicochemical and functional properties of protein concentrates from pulses. *Food Research International*, *52*(2), 445-451.
- Torres-Fuentes, C., del Mar Contreras, M., Recio, I., Alaiz, M., & Vioque, J. (2015). Identification and characterization of antioxidant peptides from chickpea protein hydrolysates. *Food Chemistry*, *180*, 194-202.
- Tóth, R. J., & Csapó, J. (2018). The role of selenium in nutrition—A review. *Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*, *11*(1), 128-144.
- Udenigwe, C. C., & Aluko, R. E. (2012). Food protein-derived bioactive peptides: production, processing, and potential health benefits. *Journal of food science*, *77*(1), R11-R24.
- Uppal, V., & Bains, K. (2012). Effect of germination periods and hydrothermal treatments on in vitro protein and starch digestibility of germinated legumes. *Journal of food science technology*, *49*(2), 184-191.
- Valdez-González, F. J., Gutiérrez-Dorado, R., García-Ulloa, M., Cuevas-Rodríguez, B. L., & Rodríguez-González, H. (2018). Effect of fermented, hardened, and dehulled of chickpea (*Cicer arietinum*) meals in digestibility and antinutrients in diets for tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Spanish Journal of Agricultural Research*, *16*(1), e0605-e0605.

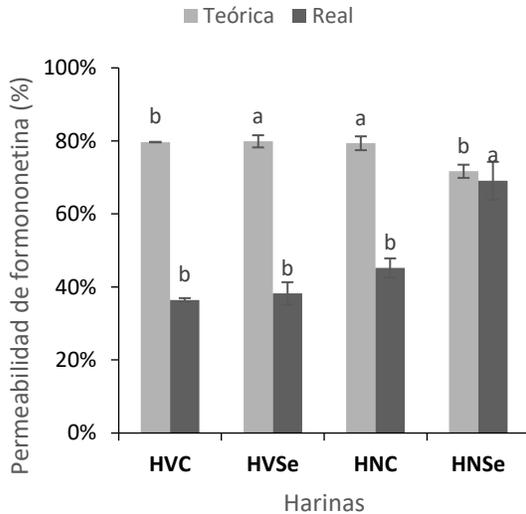
- Vega-Rojas, L. J., Luzardo-Ocampo, I., Mosqueda, J., Palmerín-Carreño, D. M., Escobedo-Reyes, A., Blanco-Labra, A., . . . García-Gasca, T. (2021). Bioaccessibility and in vitro intestinal permeability of a recombinant lectin from tepary Bean (*Phaseolus acutifolius*) using the everted intestine assay. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(3), 1049.
- Vidović, S. S., Vladić, J. Z., Vaštag, Ž. G., Zeković, Z. P., & Popović, L. M. (2014). Maltodextrin as a carrier of health benefit compounds in *Satureja montana* dry powder extract obtained by spray drying technique. *Powder technology*, 258, 209-215.
- Vinceti, M., Chawla, R., Filippini, T., Dutt, C., Cilloni, S., Loomba, R., . . . Whelton, P. (2019a). Blood pressure levels and hypertension prevalence in a high selenium environment: results from a cross-sectional study. *Nutrition, Metabolism Cardiovascular Diseases*, 29(4), 398-408.
- Vinceti, M., Filippini, T., Malagoli, C., Violi, F., Mandrioli, J., Consonni, D., . . . Wise, L. A. J. E. r. (2019b). Amyotrophic lateral sclerosis incidence following exposure to inorganic selenium in drinking water: A long-term follow-up. *179*, 108742.
- Vioque, J., Sánchez, R., Pedroche, J., Yust, M. d. M., & Millán, F. (2001). Obtención y aplicaciones de concentrados y aislados proteicos.
- Wang, C., Wang, H., Luo, J., Hu, Y., Wei, L., Duan, M., & He, H. (2009). Selenium deficiency impairs host innate immune response and induces susceptibility to *Listeria monocytogenes* infection. *BMC immunology*, 10(1), 1-12.
- Wang, K., Yuan, Y., Luo, X., Shen, Z., Huang, Y., Zhou, H., & Gao, X. (2022). Effects of exogenous selenium application on nutritional quality and metabolomic characteristics of mung bean (*Vigna radiata* L.). *Frontiers in Plant Science*, 13, 961447.
- Wang, Y., & Fu, L. (2012). Forms of selenium affect its transport, uptake and glutathione peroxidase activity in the Caco-2 cell model. *Biological Trace Element Research*, 149, 110-116.
- Wang, Y., Rijntjes, E., Wu, Q., Lv, H., Gao, C., Shi, B., & Schomburg, L. (2020). Selenium deficiency is linearly associated with hypoglycemia in healthy adults. *Redox Biology*, 37, 101709.
- Wei, Y., Li, P., Li, B., Gao, J., Wang, D., Qin, L., . . . Xu, T. (2017). Study of the Hypoglycemic Activity of Derivatives of Isoflavones from *Cicer arietinum* L. *Evidence-Based Complementary Alternative Medicine*, 2017.
- Williamson, G., Kay, C. D., & Crozier, A. (2018). The bioavailability, transport, and bioactivity of dietary flavonoids: A review from a historical perspective. *Comprehensive Reviews in Food Science Food Safety*, 17(5), 1054-1112.
- Wong, K. H., Cheung, P. C., & Ang, P. O. (2004). Nutritional evaluation of protein concentrates isolated from two red seaweeds: *Hypnea charoides* and *Hypnea japonica* in growing rats. *Hydrobiologia*, 512(1), 271-278.
- Wu, Z., Song, L., Feng, S., Liu, Y., He, G., Yioe, Y., . . . Huang, D. (2012). Germination dramatically increases isoflavonoid content and diversity in chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 60(35), 8606-8615.
- Xu, M., Jin, Z., Lan, Y., Rao, J., & Chen, B. (2019a). HS-SPME-GC-MS/olfactometry combined with chemometrics to assess the impact of germination on flavor attributes of chickpea, lentil, and yellow pea flours. *Food Chemistry*, 280, 83-95.
- Xu, M., Jin, Z., Ohm, J.-B., Schwarz, P., Rao, J., & Chen, B. (2018). Improvement of the antioxidative activity of soluble phenolic compounds in chickpea by germination. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 66(24), 6179-6187.

- Xu, M., Jin, Z., Simsek, S., Hall, C., Rao, J., & Chen, B. (2019b). Effect of germination on the chemical composition, thermal, pasting, and moisture sorption properties of flours from chickpea, lentil, and yellow pea. *Food Chemistry*, 295, 579-587.
- Xu, Q., Hong, H., Wu, J., & Yan, X. (2019c). Bioavailability of bioactive peptides derived from food proteins across the intestinal epithelial membrane: A review. *Trends in Food Science Technology*, 86, 399-411.
- Xu, X., Qiao, Y., Shi, B., & Dia, V. P. (2021). Alcalase and bromelain hydrolysis affected physicochemical and functional properties and biological activities of legume proteins. *Food Structure*, 27, 100178.
- Xue, Z., Wang, R., Wen, H., Yu, W., & Kou, X. (2018). Biochanin A and CPe-III peptide improved hepatic inflammation by regulating the hepatic lipid metabolic pathways in diet-induced obese mice. *Transactions of Tianjin University*, 24, 234-243.
- Xue, Z., Wen, H., Zhai, L., Yu, Y., Li, Y., Yu, W., . . . Kou, X. (2015). Antioxidant activity and anti-proliferative effect of a bioactive peptide from chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Food Research International*, 77, 75-81.
- Yadav, N., Kaur, D., Malaviya, R., Saini, P., & Anjum, S. (2019). Enhancement in mineral bioavailability of extruded pulses with reduced antinutrients. *British Food Journal*, 121(11), 2967-2978.
- Yang, H., Yang, X., Ning, Z., Kwon, S. Y., Li, M.-L., Tack, F. M., . . . Yin, R. (2022). The beneficial and hazardous effects of selenium on the health of the soil-plant-human system: An overview. *Journal of Hazardous Materials*, 422, 126876.
- Yegrem, L. (2021). Nutritional composition, antinutritional factors, and utilization trends of Ethiopian chickpea (*Cicer arietinum* L.). *International journal of food science*, 2021, 1-10.
- Yili, A., Ma, Q., Lv, Q., Gao, Y., Zhao, B., Veshkurova, O., . . . Aisa, H. (2012). Antioxidant peptides from *Cicer arietinum* of Xinjiang, China. *Chemistry of Natural Compounds*, 48, 643-645.
- Younesian, O., Khodabakhshi, B., Abdolahi, N., Norouzi, A., Behnampour, N., Hosseinzadeh, S., . . . Joshaghani, H. (2021). Decreased serum selenium levels of COVID-19 patients in comparison with healthy individuals. *Biological Trace Element Research*, 1-6.
- Zhai, Q., Cen, S., Li, P., Tian, F., Zhao, J., Zhang, H., & Chen, W. (2018). Effects of dietary selenium supplementation on intestinal barrier and immune responses associated with its modulation of gut microbiota. *Environmental Science Technology Letters*, 5(12), 724-730.
- Zhang, H., Duan, Y., Feng, Y., & Wang, J. (2019). Transepithelial transport characteristics of the cholesterol-Lowing soybean peptide, WGAPSL, in Caco-2 cell monolayers. *Molecules*, 24(15), 2843.
- Zhang, L., Li, Q., Yang, X., & Xia, Z. (2012). Effects of sodium selenite and germination on the sprouting of chickpeas (*Cicer arietinum* L.) and its content of selenium, formononetin and biochanin A in the sprouts. *Biological Trace Element Research*, 146(3), 376-380.
- Zhang, X. (2019). In my element: selenium. *A European Journal*, 25(11), 2649-2650.
- Zhang, X., He, H., Xiang, J., Yin, H., & Hou, T. (2020). Selenium-containing proteins/peptides from plants: A review on the structures and functions. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 68(51), 15061-15073.

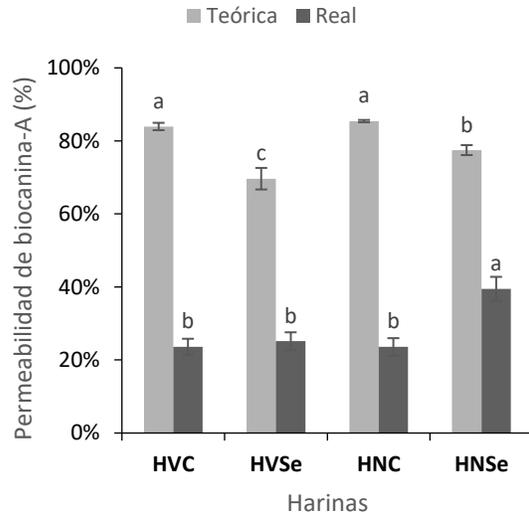
- Zhang, Y., Su, D., He, J., Dai, Z., Asad, R., Ou, S., & Zeng, X. (2017). Effects of ciceritol from chickpeas on human colonic microflora and the production of short chain fatty acids by in vitro fermentation. *LWT-Food Science Technology*, 79, 294-299.
- Zhu, Y., Lao, F., Pan, X., & Wu, J. (2022). Food protein-derived antioxidant peptides: Molecular mechanism, stability and bioavailability. *Biomolecules*, 12(11), 1622.

## ANEXOS

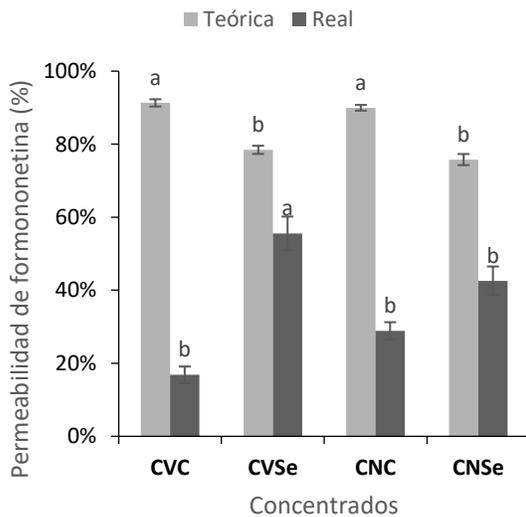
a)



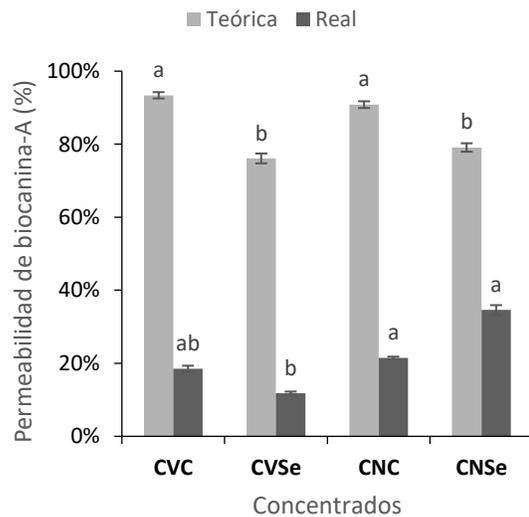
b)



c)



d)



**Figura 3.** Permeabilidad de formononetina y biochanina-A (%) en harinas y concentrados proteicos de garbanzo germinado tipo desi verde y negro con y sin selenio. Permeaciones de formononetina y biochanina-A en harinas (a y b) y en concentrados (c y d). VC. Garbanzo verde germinado control. VSe. Garbanzo verde germinado-selenizado. NC. Garbanzo negro, germinado control. NSe. Garbanzo negro germinado-selenizado. Diferencias significativas se indican mediante letras distintas ( $p > 0.05$ ). Teórica:  $100 - ((\text{Apical } t_{0} / \text{Apical } t_{120})) * 100$ ; Real:  $(\text{Basolateral } t_{120} / \text{Apical } t_{0}) * 100$

**Cuadro 12.** Prueba de efectos en garbanzo germinado selenizado sobre propiedades fisicoquímicas y tecnofuncionales.

<b>Variables</b>	<b>Aw</b>	<b>pH</b>	<b>DE</b>	<b>ISA</b>	<b>IAA</b>	<b>IAAc</b>
Variedad de garbanzo	<.0001*	<.0001*	<.0001*	0.0003*	0.4504	0.2541
Contenido de Selenio	<.0001*	0.0023*	<.0001*	0.0034*	0.0069*	0.6737
Tratamiento	<.0001*	<.0001*	<.0001*	<.0001*	0.0004*	0.6313
Variedad*Contenido de Selenio	<.0001*	0.0142*	0.0757	0.1772	0.6263	0.1643
Contenido de Selenio* Tratamiento	0.0006*	0.0023*	<.0001*	0.0142*	0.0111*	0.2606
Variedad* Tratamiento	<.0001*	<.0001*	<.0001*	0.0004*	0.4529	0.4897
Variedad*Contenido de Selenio* Tratamiento	<.0001*	0.2680	<.0001*	0.1082	0.5182	0.4312

aw: Actividad de agua. pH: Potencial de hidrogeno. DE: Delta E. ISA: Índice de solubilidad de agua. IAA: Índice de absorción de agua. IAAC: Índice de absorción de aceite.

**Cuadro 13.** Prueba de efectos en garbanzo germinado-selenizado sobre el contenido de fenólicos totales y proteína soluble.

<b>Variables</b>	<b>Fenólicos totales</b>			<b>Proteína soluble</b>		
	<b>SD</b>	<b>DS</b>	<b>DI</b>	<b>SD</b>	<b>DS</b>	<b>DI</b>
Variedad de garbanzo	0.9543	0.8206	<.0001*	<.0001*	0.0022*	0.3488
Contenido de Selenio	<.0001*	0.0613	0.0002*	<.0001*	<.0001*	<.0001*
Tratamiento	<.0001*	<.0001*	<.0001*	<.0001*	<.0001*	<.0001*
Variedad*Contenido de Selenio	0.9543	0.2786	<.0001*	0.3572	<.0001*	0.1954
Contenido de Selenio* Tratamiento	<.0001*	<.0001*	<.0001*	0.0004*	<.0001*	<.0001*
Variedad* Tratamiento	0.9543	0.0045*	<.0001*	<.0001*	<.0001*	0.0007*
Variedad*Contenido de Selenio*Tratamiento	0.9543	0.0134*	<.0001*	0.0006*	<.0001*	0.3351

SD: Sin digerir. DS: Digerido soluble. DI: Digerido insoluble

**Cuadro 14.** Prueba de efectos en formononetina y biocanina-A de garbanzo germinado-selenizado.

Variables	Formononetina			Biocanina-A			TIF		
	SD	DS	DI	SD	DS	DI	SD	DS	DI
Variedad de garbanzo	<.0001*	0.0006*	0.0080*	<.0001*	0.5489	<.0001*	0.0294*	0.4927	<.0001*
Contenido de Selenio	<.0001*	<.0001*	<.0001*	<.0001*	<.0001*	0.0122*	<.0001*	<.0001*	<.0001*
Tratamiento	<.0001*	<.0001*	<.0001*	<.0001*	<.0001*	<.0001*	<.0001*	<.0001*	<.0001*
Variedad*Contenido de Selenio	<.0001*	0.0446*	0.4919	<.0001*	0.0123*	0.0002*	0.9696	0.0128*	0.0013*
Contenido de Selenio* Tratamiento	<.0001*	0.0002*	<.0001*	<.0001*	0.1409	0.2925	<.0001*	0.8908	<.0001*
Variedad* Tratamiento	<.0001*	0.4459	0.0155*	<.0001*	0.8130	0.0001*	0.0487*	0.6936	<.0001*
Variedad*Contenido de Selenio* Tratamiento	<.0001*	<.0001*	0.6019	<.0001*	0.0010*	0.0004*	0.0510	<.0001*	0.0014*

. SD: Sin digerir. DS: Digerido soluble. DI: Digerido insoluble. TIF: Total de isoflavonas.

**Cuadro 15.** Prueba de efectos del modelo en muestras digeridas de garbanzo germinado-selenizado sobre proteína soluble y péptidos de fracciones insolubles (10 kDa).

Variables	10 kDa	
	Proteína soluble	Péptidos
Variedad de garbanzo	<.0001*	0.0001*
Contenido de Selenio	<.0001*	0.0097*
Tratamiento	<.0001*	<.0001*
Variedad*Contenido de Selenio	<.0001*	0.0005*
Contenido de Selenio* Tratamiento	0.0005*	<.0001*
Variedad* Tratamiento	0.3144	<.0001*
Variedad*Contenido de Selenio* Tratamiento	0.3696	<.0001*

SD: Sin digerir. DS: Digerido soluble. DI: Digerido insoluble.

**Cuadro 16.** Prueba de efectos del modelo en muestras digeridas de garbanzo germinado-selenizado en actividad antioxidante (Caco-2) y antiinflamatoria (RAW 264.7).

Variables	Actividad antioxidante celular		Actividad antiinflamatoria	
	DS	DSp	DS	DSp
Variedad de garbanzo	0.0165*	0.6021	0.0024*	0.7715
Contenido de Selenio	0.1942	0.0142*	0.5544	0.2771
Tratamiento	<.0001*	0.6620	<.0001*	0.0003*
Variedad*Contenido de Selenio	0.3703	0.0964	0.4604	0.2408
Contenido de Selenio* Tratamiento	0.4330	0.0001*	0.0009*	<.0001*
Variedad* Tratamiento	<.0001*	0.0046*	<.0001*	0.0257*
Variedad*Contenido de Selenio* Tratamiento	0.0774	0.7698	0.0092*	0.0095*

DS: Digerido soluble. DSp: Digerido soluble permeado.

**Cuadro 17.** Prueba de efectos del modelo en muestras digeridas de garbanzo germinado-selenizado.

Variables	AAC		NOI	
	DI	FPI	DI	FPI
Variedad de garbanzo	0.1890	0.0137*	0.0008*	0.1251
Contenido de Selenio	0.0225*	0.7638	0.0822	0.5581
Tratamiento	0.6334	<.0001*	0.0003*	<.0001*
Variedad*Contenido de Selenio	0.5620	0.2594	0.9227	<.0001*
Contenido de Selenio* Tratamiento	0.2284	0.8518	0.5200	<.0001*
Variedad* Tratamiento	0.0288*	0.6900	0.4404	<.0001*
Variedad*Contenido de Selenio* Tratamiento	0.0371*	0.6134	0.0006*	<.0001*

DI: Digerido insoluble. FPI: Fracción peptídica insoluble (<10 kDa).

**Cuadro 18.** Prueba de efectos del modelo en muestras digeridas de garbanzo germinado-selenizado sobre su biodisponibilidad.

Variables	Formononetina	Biocanina-A
-----------	---------------	-------------

	<b>Teórica</b>	<b>Real</b>	<b>Teórica</b>	<b>Real</b>
Variedad de garbanzo	0.0181*	0.0155*	0.0566	0.0005*
Contenido de Selenio	<.0001*	0.0005*	<.0001*	0.0131*
Tratamiento	<.0001*	0.0063*	0.0002*	0.1367
Variedad*Contenido de Selenio	0.3245	0.2075	0.0041*	0.0159*
Contenido de Selenio* Tratamiento	0.0001*	0.0092*	0.0359*	0.8928
Variedad* Tratamiento	0.3480	0.0119*	0.0772	0.2230
Variedad*Contenido de Selenio* Tratamiento	0.6712	0.0414*	0.3077	0.1133