



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA
Facultad de Ciencias de la Nutrición y Gastronomía
Maestría en Ciencias de la Nutrición y Alimentos Medicinales



**Efecto de la biofortificación con selenio e hidrólisis enzimática sobre
los compuestos antioxidante de garbanzo desi rojo y negro**

TESIS

Como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN
Y ALIMENTOS MEDICINALES**

Presenta:

Lic. Esmeralda Mascareño Montoya



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



AGRADECIMIENTOS

A la universidad Autónoma de Sinaloa, al programa de Maestría en Ciencias de la Nutrición y Alimentos Medicinales, a la Facultad de Ciencias Químico Biológicas y al laboratorio 18 por abrirme las puertas de sus instalaciones, permitirme llevar a cabo mi proceso experimental y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico otorgado para la realización de este trabajo.

A mis directoras de tesis Ada Keila y Evelia María Milán Noris, asesores Dr. Álvaro Montoya Rodríguez, Dra. Daniela Guardado Félix y Dra. Eslim Suguey Sandoval Sicaños, por quienes siento un gran respeto y admiración. Gracias por brindarme la oportunidad de trabajar con ustedes y ayudarme a cumplir esta meta personal.

A todos mis profesores de posgrado los cuales en cada clase me incentivaban a enamorarme más de la ciencia, mis compañeros de aula y laboratorio los cuales fueron pieza clave en esta etapa.

A mi familia, en especial a mis padres y hermanos por siempre estar ahí y ser mi pilar en todo momento, motivarme a cumplir mis metas y sobre todo por tanta comprensión y amor brindado. Los quiero con todo mi corazón.

A mi abuelo Manuel Mascareño[†] y tío Alfredo Mascareño[†] por nunca soltarme.

A mis amigos, por siempre creer en mí y ayudarme en todo momento.

Agradezco infinitamente a Dios, por todo lo que me ha dado, por las bendiciones que me rodean y las personas que amo y me aman.

DEDICATORIA

A todos aquellos que han sido una parte integral de mi camino académico y personal.

A mi familia, por su amor incondicional y por creer en mí desde el primer día. Por sus sacrificios y su apoyo constante que han sido la clave de mi éxito.

A mis directoras y mentoras, por su dedicación y pasión por la enseñanza y por guiarme en mi camino.

A todas las personas que creyeron en mi les agradezco de todo corazón. No podría haber llegado hasta aquí sin su apoyo.

¡Gracias!

PRESENTACIÓN

El siguiente trabajo titulado Efecto de la biofortificación con selenio e hidrolisis enzimática sobre los compuestos antioxidante de garbanzo desi rojo y negro.

Se desarrolló en el laboratorio de nutracéuticos (Lab. 18), perteneciente al Programa de Posgrado Integral en Biotecnología de la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas de la Universidad Autónoma de Sinaloa. Fungiendo como directores de tesis la Dra. Evelia María Milán Noris y Dra. Ada Keila Milán Noris. La Dra. Daniela Guardado, Dra. Eslim Suguey Sandoval Sicaños y el Dr. Alvaro Montoya Rodríguez fungieron como asesores académicos. El proyecto se financio con fondos internos del grupo de investigación.

RESUMEN

El garbanzo es un potencial alimento funcional por ser una fuente importante de nutrientes y compuestos bioactivos. La biofortificación con selenio durante la germinación ha mejorado las propiedades nutraceuticas de garbanzo kabuli. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de la germinación, selenización y digestión gastrointestinal *in vitro* sobre el contenido de compuestos bioactivos en garbanzo negro y rojo. Los granos de garbanzo desi acumularon más del 90 % de selenio al día 5 de germinación. Las variables de tiempo de germinación ($p < 0.001$) y selenización ($p < 0.001$) tuvieron un efecto significativo sobre CFT (compuestos fenólicos totales) y PS (contenido de proteína soluble). Ambas variedades incrementaron sus valores en compuestos bioactivos por la germinación sin embargo el efecto fue mayor en la variedad negra. CFT incremento 17% en granos sin Se y 25% en muestras con Se, comparando el día 1 contra 5. Por otra parte, en la variedad negra se observó un incremento del 39% de PS en las muestras sin adición de dicho elemento y un 45% más en el grano con selenio en relación con el tiempo de germinación. El tiempo de germinación aumentó (2 a 3 veces) significativamente ($p < 0.05$) la capacidad antioxidante en las muestras de garbanzo germinadas, comparando el día 1 contra 5. Sin embargo, la presencia de selenio no mostró efecto significativo ($p < 0.05$) sobre la capacidad antioxidante. La hidrólisis enzimática de las muestras de garbanzo desi germinado incremento (150-400%) PS, (15-veces) CFT y (2-veces) capacidad antioxidante cuando se compararán contra su contraparte sin hidrolizar. Nuestros resultados muestran que la combinación de la germinación con SGI generan ingredientes funcionales con potencial para el tratamiento de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo. De acuerdo con los resultados la variedad de garbanzo desi negro resulta un interesante material para seguir evaluando para la obtención de alimentos funcionales.

(Palabras clave: Germinación, Selenio, Garbanzo, Compuestos Bioactivos, simulación gastrointestinal)

INDICE

DERECHOS DE AUTOR	i
AGRADECIMIENTOS	ii
DEDICATORIA	iii
PRESENTACIÓN	iv
RESUMEN	v
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE TABLAS	x
ÍNDICE DE ANEXOS	xi
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 <i>Germinación</i>	3
2.1.1 Descripción del bioproceso	5
2.1.1.1 Imbibición.....	5
2.1.2 Germinación con elicitores	7
2.2 GARBANZO	14
2.2.1 Generalidades del garbanzo.....	14
2.2.2 Composición nutrimental y nutraceutica del grano de garbanzo	18
2.2.1 Proteínas.....	20
2.2.2 Carbohidratos.....	21
2.2.3 Lípidos	23
2.2.4 Vitaminas y minerales.....	23
2.3 <i>Nutraceuticos</i>	24
2.4 <i>Efecto benéfico</i>	27
2.5 <i>hidrolizados proteínicos</i>	31
2.5.1 <i>Enzimas durante la digestión gastrointestinal</i>	32
2.5.2 Efecto a la salud de hidrolizados/péptidos de garbanzo.....	33
3. HIPÓTESIS	39
4. OBJETIVOS	40
4.1 <i>Objetivo general</i>	40

4.2 Objetivo específico.....	40
5. MATERIALES Y METODOS	41
5.1 MATERIALES.....	41
5.2 METODOS.....	41
5.2.1. Germinación	43
5.2.2. Propiedades físicas.....	43
5.2.3. Determinación de selenio en grano	43
5.2.4. Extractos metanólicos.....	44
5.2.5. Extracto de proteína	44
5.2.6. SDS-PAGE.....	45
5.2.7. Medición de proteína soluble (DC-Protein Assay).....	45
5.2.8. Determinación del contenido de fenólicos totales (CFT).....	46
5.2.9. Actividad Antioxidante	47
5.2.10. Simulación de digestión gastrointestinal <i>in vitro</i>	48
5.2.11. Análisis estadístico	48
6. RESULTADOS	49
6.1. <i>Efecto del tiempo de germinación con selenito de sodio sobre características físicas de garbanzo pigmentado.</i>	49
6.2. <i>Cuantificación del contenido de Selenio en garbanzo pigmentado germinado y germinado-selenizado.</i>	51
6.3. <i>Efecto de la germinación de garbanzo pigmentado sobre el perfil de proteínas y contenido de proteína soluble.</i>	53
6.4 <i>Efecto de la germinación de garbanzo pigmentado sobre el contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante.</i>	59
6.5 <i>Efecto del contenido de selenio y del tiempo de hidrolisis en garbanzo pigmentado sobre el perfil de proteínas, contenido de compuestos fenólicos, proteína soluble y actividad antioxidante.</i>	63
7. Discusión.....	72
7.1 <i>Efecto de germinación con selenito de sodio sobre compuestos bioactivos en las variedades de garbanzo desi negro y rojo.</i>	72
7.2 <i>Efecto de la simulación gastrointestinal sobre la liberación de compuestos antioxidantes en garbanzo germinado-selenizado</i>	74
8.CONCLUSIONES	77

9. RECOMENDACIONES	78
10. REFERENCIAS	79
ANEXOS	92

LISTA DE FIGURAS

Figura	Descripción	Página
1	Evolución de la absorción de agua y algunos cambios importantes asociados a la germinación y crecimiento de la plántula con respecto al tiempo.....	4
2	Metabolismo de selenio	13
3	Estructura del grano de garbanzo (<i>Cicer arietinum</i> L.)	16
4	Diagrama experimental.....	42
5	Perfil de proteínas (SDS-PAGE) en garbanzo desi germinado en las variedades 5383 (A) y 3761 (B).....	54
6	Perfil de proteínas (SDS-PAGE) en hidrolizados de garbanzo desi germinado selenizado.....	64

LISTA DE TABLAS

Tabla	Descripción	Página
1	Clasificación de los elicitores.....	8
2	Composición nutrimental de garbanzo seco.....	19
3	Nutraceúticos presentes en garbanzo crudo.....	26
4	Propiedades físicas de garbanzo desi germinado y selenizado.....	50
5	Contenido de selenio en variedades de garbanzo germinado y selenizado.....	52
6	Contenido de Proteína soluble en garbanzo desi germinado y selenizado.....	56
7	Prueba de Efectos del modelo en muestras de garbanzo germinado selenizado.....	58
8	Contenido de Fenólicos totales en garbanzo desi germinado y selenizado.....	60
9	Actividad antioxidante AAOX en garbanzo desi germinado y selenizado.....	62
10	Contenido de Proteína Soluble en hidrolizados de garbanzo germinado y selenizado de dos variedades desi.....	66
11	Contenido de Fenólicos totales en hidrolizados de garbanzo germinado y selenizado de dos variedades desi.....	68
12	Actividad antioxidante en hidrolizados de garbanzo germinado y selenizado de dos variedades desi.....	70
13	Prueba de Efectos del modelo en muestras de hidrolizados de garbanzo germinado selenizado.....	71

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo	Descripción	Página
1	Cartel “Cambios durante el bioprocesamiento de garbanzo pigmentado con selenito de sodio sobre el perfil de proteínas y el contenido de proteína soluble y fenólicos totales”	93
2	Resumen “Cambios durante el bioprocesamiento de garbanzo pigmentado con selenito de sodio sobre el perfil de proteínas y el contenido de proteína soluble y fenólicos totales”	94

1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años, el consumo de garbanzo ha aumentado, tal vez por su contenido de compuestos bioactivos con efecto a la salud (Gupta & Gupta, 2017; Jukanti et al., 2012). Por otra parte, el garbanzo desi pigmentado, como otras semillas pigmentadas, tienen mayor contenido de fitoquímicos (compuestos fenólicos, β -glucanos, almidón resistente) con mayor capacidad antioxidante (ORAC, ABTS, DPPH and FRAP) y calidad proteica comparado con semillas no pigmentadas (Tiznado et al., 2013; Garzón-Tiznado et al., 2012; Milán-Noris et al, 2019; Quintero Soto et al., 2018). Desdichadamente, el garbanzo pigmentado se utiliza principalmente para la alimentación de animales, debido a las dificultades de su procesamiento por el alto contenido de fibra (Raza et al., 2019). Además, el procesamiento (cocción, extrusión, germinación) mejora el contenido de fitoquímicos en el garbanzo pigmentado (Tiznado et al., 2013; Milán-Noris et al., 2016). En particular el proceso de germinación mejora su calidad nutricional y nutracéutica. Este proceso puede incrementar 4 veces el contenido total de isoflavonas en el germinado al compararse con el grano crudo, durante la germinación también aumenta el contenido de vitamina C, E, carotenos y capacidad antioxidante (Milán-Noris et al., 2018).

El selenio (Se) es un mineral esencial para la nutrición de humanos y animales. Esta molécula actúa como cofactor en las selenoenzimas como glutatión peroxidasa y tioredoxina reductasa, enzimas en el organismo encargadas de reducir las especies reactivas de oxígeno y mantener el balance redox. Su recomendación diaria es de 50 $\mu\text{g}/\text{día}$, pero consumir dosis supranutricionales (200 $\mu\text{g}/\text{día}$) reduce el riesgo de cáncer (NIH, 2018). El proceso de germinación en leguminosas y vegetales en presencia de Selenio se ha estudiado como estrategia para incrementar el consumo diario de Selenio (Guardado-Félix et al., 2017). En particular, el germinar garbanzo en

presencia de Selenio (2 mg/100 g) resulta en el aumento de los niveles de selenio (115 veces) comparado con el control. Además de incrementar el contenido de isoflavonas y capacidad antioxidante (Guardado-Félix et al., 2017). También se ha encontrado que la suplementación de brotes de garbanzo-selenizado tiene efectos quimiopreventivos mediados por la activación de apoptosis y prevenir la oxidación de lípidos por la actividad de glutatión peroxidasa (Guardado-Félix et al., 2019). Algunos estudios han evidenciado que el selenio se acumula en las proteínas de garbanzo principalmente en la fracción de glutelina, en forma de seleno-metionina (Serrano-Sandoval et al., 2019; Zhang et al., 2012).

A pesar de lo antes mencionado, no sabemos si la germinación-selenización en garbanzo desi sea tan favorable como el grano kabuli. Por lo anterior con este trabajo se busca generar información sobre el efecto de la germinación en presencia de selenio (como elicitador) sobre los compuestos nutraceuticos en dos variedades de garbanzo desi. Además de evaluar la biodisponibilidad de estos compuestos después de una simulación gastrointestinal.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Germinación

La germinación es un bioproceso a través del cual se forma una nueva planta a partir de una semilla seca (Kermode, 1990). El ciclo de vida de las plantas se constituye de dos fenómenos adaptativos, que son formación de una semilla y su germinación. Durante el proceso de formación de una semilla, en ella se acumulan sustancias de reserva (proteínas, carbohidratos y lípidos), asociados a un incremento en los niveles de ácido abscísico durante la embriogénesis intermedia y la pérdida del contenido de agua durante la embriogénesis tardía. Una vez formada, en la mayoría de las especies, la semilla pasa a un estado de desecación y posteriormente de latencia hasta el momento de la germinación (Legaria Solano et al., 2000).

El proceso de germinación comienza con absorción de agua por la semilla (imbibición) y termina con la aparición del embrión, generalmente la radícula, a través de las estructuras que lo rodean. Este proceso se define como el conjunto de fenómenos mediante los cuales el embrión dentro de la semilla pasa de un estado latente a un estado activo. Está constituido por varias fases: absorción de agua o imbibición, activación del metabolismo y proceso de respiración (síntesis de proteínas y movilización de sustancias de reserva), elongación del embrión y ruptura de la testa a través de la cual se observa la salida de la radícula (Bradford y Nonogaki, 2007). En términos bioquímicos, la germinación es el resultado de procesos catabólicos y anabólicos contrastantes. En la **Figura 1** se pueden observar los diferentes cambios metabólicos que ocurren durante el proceso de germinación.

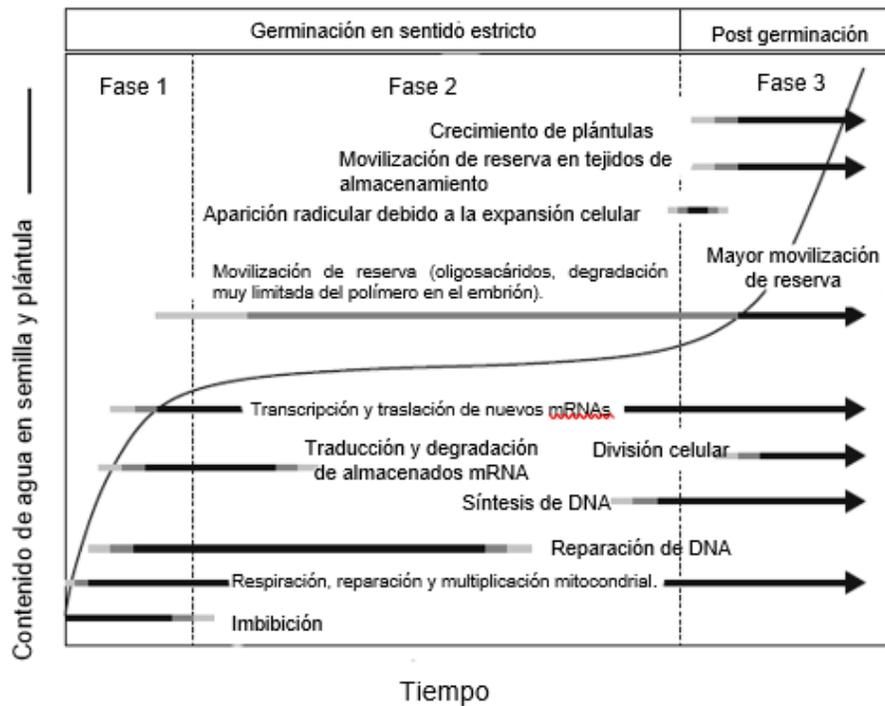


Figura 1. Evolución de la absorción de agua y algunos cambios importantes asociados a la germinación y crecimiento de la plántula con respecto al tiempo. Fuente: Bradford & Nonogaki, 2007. Cortesía de Elsevier.

2.1.1 Descripción del bioproceso

2.1.1.1 Imbibición

En este bioproceso ocurren diversos eventos, pero se da inicio con la captación de agua por la semilla (imbibición) (Bradford, 1990). La rehidratación de la semilla es un paso inicial y esencial en la germinación. Las semillas generalmente tienen un rango de humedad de 5-15%, sin embargo, la captación de agua está en función directa de su tamaño, permeabilidad de la cubierta, cantidad y disponibilidad de agua y composición química (Bradford y Nonogaki, 2007).

El proceso de captación de agua se divide en 3 fases (ganancia de peso, fase estacionaria y crecimiento de radícula), el cual se puede llevar a cabo en un lapso de un par de horas hasta en varios días (Meredith et al., 1978). El agua es absorbida a través de los orificios naturales en la cubierta, difundándose a lo largo de los tejidos; ocasionando un incremento en el volumen de las células y de la semilla. Algunas acciones como imbibición rápida, extracción o daño de testa, pueden provocar tensiones internas causando la interrupción de las paredes celulares, formación de ampollas en la superficie del cotiledón y la extrusión del contenido celular (Bradford y Nonogaki, 2007).

A medida que la semilla absorbe agua, el valor del potencial matricial se vuelve menos negativo causando que los componentes y paredes celulares se hidraten y disminuya el gradiente de absorción, lo cual lentifica la tasa de absorción de agua, por lo que la semilla llegara a un equilibrio total cercano con el de la fuente externa de agua. Una vez que las células vegetales se expanden absorbiendo agua y estirando sus paredes celulares, el aumento en la absorción de agua durante esta fase indica el inicio del crecimiento del embrión en plántulas dando por completada la germinación (Bradford y Nonogaki, 2007).

2.1.1.2 Iniciación del metabolismo

Una vez que la semilla ha captado suficiente agua, el embrión se transfigura y la plúmula y radícula empiezan a emerger; en este punto se lleva a cabo síntesis y activación enzimática, degradación de inhibidores y diversos cambios en su estructura. Además, surge un incremento en los niveles de metabolitos intermediarios y enzimas, los cuales se relacionan a la producción de energía, especialmente del ciclo de los ácidos tricarboxílicos (Duffus y Coalin Slaughter, 1980).

Para llevar a cabo este proceso en óptimas condiciones es importante tomar en cuenta el tiempo de remojo, tipo y dosificación de agentes desinfectantes, temperatura, tiempo de germinación, tipo de cosecha del grano y presencia de estrés osmótico en la semilla (Castro y Figueras, 2005).

2.1.1.3 Importancia de los germinados en la salud humana

El proceso de germinación provoca transformaciones fisiológicas y morfológicas, las cuales brindan cambios en características bioquímicas, nutrimentales y sensoriales en la semilla, mostrando tener un impacto más allá de un simple consumo. De manera global se puede decir que son nutritivos, puesto que contienen Calcio, Hierro, Magnesio, Fosforo, Potasio y fibra (López-Martínez et al., 2017), alto contenido de nutrientes, compuestos fitoquímicos con potencial actividad antioxidante y cantidades más bajas de anti nutrientes (Pajak et al., 2014; Gan et al., 2016)). Además, que aumentan potencialmente su esquema nutrimental conforme se van desarrollando; el proceso germinativo es un factor importante para la generación de nutrimentos que no se encuentran en forma natural en las semillas, como es el caso de algunas vitaminas como ácido ascórbico (C), riboflavina (B2), niacina (B3), tocoferol (E), tiamina (B1), ácido pantoténico (B5), y además de la degradación de algunos anti nutrientes como taninos, ácido fítico y α -galactosidos (Gan et al., 2016), lo cual mejora la digestibilidad de proteínas y almidón (Raza et al., 2019). Asimismo, se destaca que la germinación tiende a un aumento de

compuestos bioactivos que exhiben actividad antioxidante, contenido fenólico, aminoácidos y péptidos (López-Martínez et al., 2017).

2.1.2 Germinación con elicitores

Diversos trabajos de investigación han empleado herramientas biotecnológicas con el fin de mejorar la síntesis de compuestos fitoquímicos en las plantas, mostrando que existe un grupo de sustancias que actúan como señalizadores en el proceso de germinación llamados “elicitores” (Baenas et al., 2014). Sin embargo, parámetros como clasificación, tipo, concentración, duración de la exposición, programa de tratamiento, tipo de cultivo, línea celular, composición del medio, presencia o ausencia de regulación del crecimiento y la edad o etapa del cultivo en el momento del tratamiento con elicitores, se deben cuidar al momento de utilizarlos, para así garantizar una efectividad en el bioproceso (Baenas et al., 2014).

2.1.2.1 Elicitores

Los elicitores son moléculas exógenas que producen cambios fisiológicos en las plantas; su mecanismo de acción se fundamenta en aplicar estrés físico o químico a las suspensiones celulares y/o tejidos, con el fin de aumentar la producción de metabolitos secundarios a niveles que no son producidos normalmente (Piñeros-Castro et al., 2009). Razón por la cual su utilización es una herramienta que ha ganado popularidad en la industria alimentaria para mejorar las propiedades nutrimentales de diversos productos, al igual que en la industria farmacéutica para la obtención y/o extracción de ingredientes, aunado al rendimiento de compuestos nutraceuticos (Baenas et al., 2014; Perez-Balibrea et al., 2011).

Existen diferentes clasificaciones de los elicitores como la propuesta por Halder et al., 2019 (**Tabla 1**), quienes los clasifican según su “naturaleza” como bióticos o abióticos o según su “origen” en exógenos o endógenos.

Tabla 1. Clasificación de los elicitores

Clasificación basada en su naturaleza
Bióticos
Lipopolisacáridos Polisacáridos: Pectina y celulosa, quitosano, quitina y glucanos (microorganismos), alginato, goma guar, goma arábica. Oligosacáridos: Galacturónidos. Proteínas: Celulosa, glucoproteínas, proteína de pescado, hidrolizados, lactoferrina. Composición compleja: esporas de hongos, pared celular de micelios, pared celular microbiana Toxinas patógenas: Coronatina
Abióticos
Químicos Sales de metales pesados: $Ag_2S_2O_3$, $AgNO_3$, $CdCl_2$, $CuCl_2$, $CuSO_4$, $VOSO_4$, $NISO_4$, selenio, etc. Estresores osmóticos: manitol, sorbitol, cloruro de sodio, cloruro de potasio, cloruro de cadmio, polivinilpirrolidona, etc. Sustancias gaseosas: NO, etileno, etc. Físicos Luz, Radiación ultravioleta, cambio de temperatura, salinidad, sequia, alta o baja osmolaridad y CO_2
Clasificación basada en su origen
Exógenos: se originan fuera de la célula. Por ejemplo: glucomannosa, glucanos, quitosano, monilicolina, poliaminas, glicoproteínas, poligalacturonasa, endopoligalacturónico, ácido liasa, celulosa, ácido araquidónico, ácido eicosapentanoico, etc. Endógenos: ácido jasmónico, jasmonato de metilo, ácido salicílico, ácido acetilsalicílico, sistemina, etc.

Fuente: Halder et al., 2019

La literatura existente ha mostrado varios ejemplos del uso exitoso de elicitores ya sea bióticos o abióticos como inmunoestimulante para la producción de alimentos. En particular, algunos elicitores dentro de la clasificación de abióticos han mostrado proteger las plantas junto con sus cultivos sin producir toxicidad, siendo el selenio uno de los más estudiados (Caicedo-López et al., 2021).

2.1.2.2 Selenio

El elemento selenio (Se) fue descubierto por el químico Jöns Jacob von Berzelius, al investigar la causa de una patología muy popular en trabajadores de la industria de producción de ácido sulfúrico a partir de piritas en el año 1817 (Kieliszek et al., 2015). El selenio puede existir en cinco estados de oxidación: selenuro (2^-), selenio elemental (0), thioselenato (2^+), selenito (4^+) y selenato (6^+). Su presencia y concentración están determinadas por factores como pH, oxido-reducción, solubilidad en sus sales, interacción biológica y reacciones cinéticas (Alcantar Gonzalez y Trejo-Tellez, 2009). Es considerado un elemento traza u oligoelemento no metal, con el número atómico 34, grupo 16, ubicado en el cuarto periodo de la tabla periódica del grupo de los calcógenos. Dentro de los 88 elementos, ocupa el septuagésimo en abundancia, se considera escaso ya que su contenido en la corteza terrestre oscila entre 0.01 a 2 mg kg⁻¹ (Gupta y Gupta, 2017). Su persistencia en el suelo está determinada por su geología, vegetación, pH, presencia de microorganismos y condiciones climáticas (Fordyce, 2013; Jones et al., 2017). Sin embargo, es un metaloide natural que se recicla fácilmente dentro de la litosfera, hidrosfera, atmósfera y biosfera (Paikaray, 2016). La concentración de este oligoelemento en los campos agrícolas fluctúa entre 0.005 y 3.5 mg kg⁻¹, con un promedio de 0.2 mg kg⁻¹ (Alloway, 2013); en cambio en suelos seleníferos su concentración oscila de 5 a 1200 mg kg⁻¹ (Kaur et al., 2014). La deficiencia de Selenio en los suelos está presente en aproximadamente 40 países alrededor del mundo (Pilon-Smits et al., 2017); mientras tanto los

suelos seleníferos se ubican principalmente en EE. UU, Canadá, Colombia, Venezuela, Australia, India, Irlanda, China y Rusia (Fordyce, 2013; Perrone y Cortes Nunes, 2015). También, Selenio cuenta con la peculiaridad de tener diversos estados de oxidación, las cuales determinan su disponibilidad y estabilidad (Alcantar Gonzalez y Trejo-Tellez, 2009).

El Selenio constantemente está formando una gran variedad de compuestos orgánicos e inorgánicos. Mayormente sus especies orgánicas contiene selenio en estado (-2), y de forma inorgánica en selenito (Se^{4+}) y selenato (Se^{6+}). Estos últimos son solubles en agua; selenito se encuentra mayormente en suelos lateríticos (oxisoles) a diferencia que selenato abunda en suelos de humedales anóxicos (Perrone y Cortes Nunes, 2015).

2.1.2.2.1 Selenio en germinación

El contenido de selenio en plantas, generalmente es determinado por la biodisponibilidad presente en los suelos y sus factores de absorción (Funes-Collado et al., 2013). Aunado a esto, la adición de este oligoelemento en bioprocesos como la germinación es una alternativa viable para su incorporación (Li et al., 2008). Dicho elemento actúa como cofactor de enzimas involucradas en diversas rutas bioquímicas, aumenta la defensa antioxidante y otros trastornos relacionados con el estrés oxidativo. Arscott y Goldman, (2012) incorporaron selenio en germinados de col rizada (*Brassica oleracea* L.), frijol chino (*Vigna radiata* L. *wilczek*) y cebolla (*Allium cepa* L.) encontrando que al utilizar dosis pequeñas ($7 \mu\text{M L}^{-1}$), el contenido de este elemento se incrementa sin afectar el crecimiento de las plantas. En cuanto a (Funes-Collado et al., 2013), adicionó selenito y selenato en germinados de lentejas (*Lens culinaris* L.), alfalfa (*Medicago sativa* L.) y soya (*Glycine Max*), detectando que el contenido de selenio presente en los germinados está directamente relacionado en función al contenido de dosis usada. Guardado-Félix et al. (2017) reportan que en lotes de garbanzo pigmentado germinados

con selenio (2 mg), se presentó un incremento del elemento de hasta 115 veces en comparación con los granos no tratados.

2.1.2.2.2 Mecanismo / metabolismo

En los últimos años ha incrementado el estudio del selenio y su rol biológico. Este elemento se encuentra en cantidades traza en los organismos biológicos en formas inorgánicas como selenito (SeO_3^{2-}), selenato (SeO_4^{2-}) y orgánicas como selenocisteína (Sec), selenometionina (SeMet), selenoazúcares y compuestos de selenio metilados de bajo peso molecular. Su biodisponibilidad se da principalmente por medio de la alimentación con plantas las cuales captan al Selenio del suelo en su forma inorgánica y posteriormente se convierte en compuestos orgánicos. La SeMet, es el compuesto mayormente presente en granos de cereales y legumbres (Hatfield et al., 2016). Entre las diferentes formas en que se puede presentar el Selenio, este es metabolizado hasta seleniuro (H_2Se) el cual es el precursor en la síntesis de seleno-cisteína. Además, tanto el selenito como selenato, son reducidos a selenuro por las enzimas glutatión-glutarredoxina y tiorredoxina. Sin embargo, existe otra vía en la cual el selenuro es generado a partir de SeMet y Sec mediante la acción de una enzima liasa (Cañari-Chumpitaz, 2011).

La incorporación de Selenio en las proteínas puede darse de manera específica regulada por Sec en el ARNt lo cual permite introducir las selenoproteínas de manera exacta, y no específica la cual se basa en la similaridad de la química del Azufre (S) y Selenio, por lo que ocasionalmente el Se puede reemplazar al S en sus rutas metabólicas (Cañari-Chumpitaz, 2011). La Sec libre puede ser un sustrato de la cisteil-ARNt sintetasa que, al formar selenocisteil-ARNtCys, incorpora a la Sec de forma no específica en posiciones donde se encontraba la cisteína en las proteínas (**Figura 2**). Se debe considerar que la incorporación específica de Sec es eficiente en concentraciones fisiológicamente óptimas de Se por lo que usualmente no se

produce Se libre, y un exceso de Se en el organismo se excreta por medio de orina como compuestos selenio metilados y selenoazúcares (Papp et al., 2007).

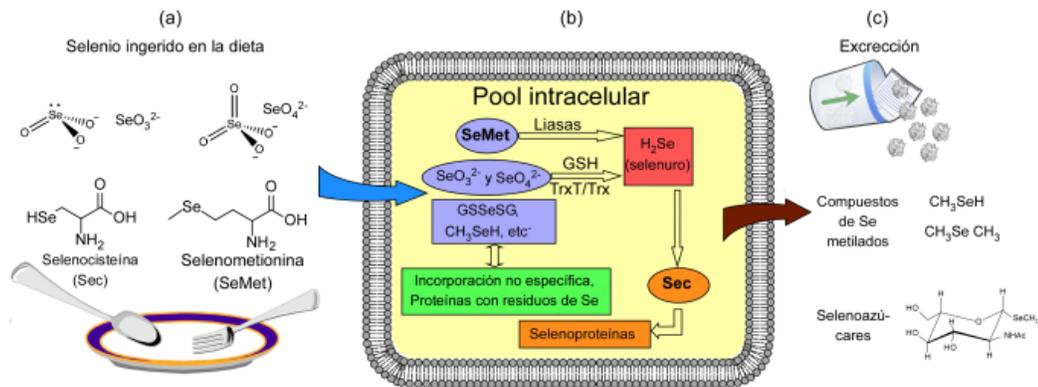


Figura 2. Metabolismo de selenio. Los metabolitos de selenio en la dieta (a) son incorporados a la célula donde, junto con el pool intracelular (b), son metabolizados por diferentes rutas que convergen en el seleniuro (b). El seleniuro sirve como fuente de selenio para la biosíntesis de selenocisteína (Sec). La excreción del exceso de Se en el organismo se realiza por medio de compuestos metilados de selenio y selenoazúcares. Fuente: Papp et al., 2007.

2.1.2.3 Selenio en la salud

Selenio es un elemento esencial para la salud humana. Está involucrado en las primeras vías metabólicas, desempeña una protección contra el daño oxidativo y regulación de los sistemas inmunológico y de reproducción (Guardado-Félix et al., 2019; NIH, 2018): La dosis recomendada de consumo es de 55 µg en adultos y 60-65 µg en mujeres embarazadas por día (NIH, 2018). No obstante, dos terceras partes de la población mundial llevan una dieta baja en este elemento, lo cual podría ser un factor que desencadene diversas enfermedades (Haug et al., 2007). No obstante, el Se ha mostrado un papel importante en prevención de estrés oxidativo, cáncer, enfermedades virales como VIH y hepatitis (Guardado-Félix et al., 2019; Serrano-Sandoval et al., 2019) además de ser un importante cofactor de diversas enzimas intervinientes en la síntesis de hormonas tiroideas, ADN, funcionamiento muscular, entre otros (Haug et al., 2007). La principal causa de deficiencia de Se es la baja cantidad del mineral presente en el suelo debido a las erosiones que se presentan de manera natural en los suelos agrícolas (Lazo-Vélez et al., 2015). Por lo tanto, esto puede ser revertido mediante la ingesta de alimentos los cuales hayan sido fortificados con este elemento en bioprocesos como fermentación y germinación (Gergely et al., 2006).

2.2 GARBANZO

2.2.1 Generalidades del garbanzo

2.2.1.1 Origen y biología

Mediante evidencia botánica y arqueología se establece que el garbanzo fue domesticado en Medio Oriente y cultivado en gran escala en India, Cuenca Mediterránea y Etiopía para posteriormente extenderse a América y Australia. A mediados del siglo XVI, españoles y portugueses introdujeron el garbanzo al continente americano, y debido a las condiciones ambientales nativas de la zona, se obtuvo una rápida expansión en países

como México; posicionándolo como un producto con importancia comercial (ASERCA, 1997).

Con respecto a su taxonomía, el garbanzo se encuentra dentro de la familia Fabaceae, tribu Vivieae, subfamilia Papilionoides, género *Cicer* del cual sólo la especie *Cicer arietinum* L presenta una importancia agronómica y económica. En el International Crops Research Institute for the Semi Arid Tropic (ICRISAT) se han recolectado cerca de 9,000 líneas de germoplasma de garbanzo. El ICRISAT se encuentra en Patancheru, India, siendo este país el principal contribuyente a este banco (Chavan et al., 1989). Los genotipos de garbanzo difieren entre sí, y de acorde al cultivo, su forma puede ser redonda, semiredonda, arrugada, semiarrugada o exalbuminosa. Existen dos tipos de grano de garbanzo: Desi (originario de la India) el cual tiene testa gruesa y pigmentada (color café, amarillo, negro o verde) y Kabuli (originario de la región del Mediterráneo y el medio oriente) característico por su testa delgada y color blanco o crema (Milán-Noris et al., 2019).

2.2.1.2 Estructura del grano

El grano de esta legumbre se conforma de 3 partes principales: testa, cotiledón y embrión (**Figura 3**). La testa corresponde a la capa o cubierta externa del grano, la cual se puede remover por remojo. El cotiledón, corresponde aproximadamente el 84% del peso del grano seco, y contiene gránulos de almidón envueltos en una matriz proteínica la cual está constituida de cuerpos proteínicos (Wood et al., 2011).

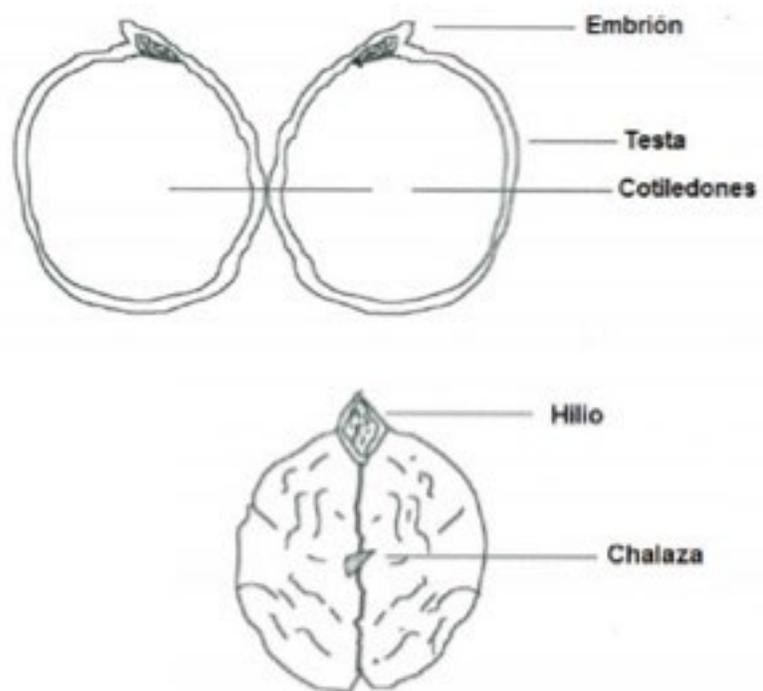


Figura 3. Estructura del grano de garbanzo (*Cicer arietinum* L.)

Fuente: Chavan, 1989.

Por otro lado, se encuentran las partes externas del garbanzo, llamadas hilio (hillum), micropilo y rafe o chalaza. El hilio es una larga cicatriz oval que se observa donde la semilla se desprende del tallo, no es uniforme, ya que su forma varía desde redonda a oblonga y de oval a elíptica. El micropilo es una diminuta apertura en la cubierta de la semilla hacia el lado del hilio (hillum) y es ahí donde el tubo polínico se introduce al ovario. Su estructura varía desde circular y triangular a una forma de tenedor. El rafe o chalaza es un canal hacia el lado del hilio y opuesto al micropilo, representa la base del tallo, el cual se fusiona con la cubierta del grano durante el proceso de madurez (Wood, 2011; , 1989). La parte restante del grano está compuesta por estructura embrionaria, la cual incluye a la raíz y un eje embrionario corto localizado por encima y debajo del cotiledón, este cuenta con diversas hojas foliadas y termina en la punta del tallo (Chavan et al., 1989).

2.2.1.3 Importancia económica

El garbanzo (*Cicer arietinum* L.) es la segunda leguminosa en importancia sobre la base de producción mundial de grano, después del frijol. Además, es considerada como una leguminosa importante en países en vías de desarrollo y en el año 2021 se reportó una cosecha de 15.871 millones de toneladas alrededor del mundo. Los países líderes en producción son India con 11.910 millones de ton que representan cerca del 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), Myanmar (467 mil ton). De manera general, la superficie de siembra y el rendimiento de producción de este grano, se encuentran en una tendencia al alza en los últimos 38 años (FAOSTAT, 2021).

México se ubica en octavo lugar de producción a nivel mundial, con un total de 180,223.05 mil ton en el año 2021 (FAOSTAT, 2021). Los estados con mayor producción son Sinaloa, Sonora, Michoacán y Baja California Sur. Su producción promedio en los últimos 10 años es de 180,574 ton (FAOSTAT,

2021). Sinaloa es el líder en producción de este grano con alrededor de 128,200 ton lo cual representa el 71% de la cosecha nacional, con un promedio 75 mil ton y una productividad media estatal de 2.109 ton/ha (SIAP, 2020).

2.2.2 Composición nutrimental y nutraceútica del grano de garbanzo

El garbanzo constituye una buena fuente de proteínas y carbohidratos complejos que incluye al almidón. También, posee cantidades importantes de vitaminas (ácido ascórbico y niacina) y algunos minerales (calcio, fósforo, magnesio, sodio, hierro Fe, potasio) y representa un excelente suministro de ácidos grasos insaturados (oleico, linoleico) (**Tabla 2**) (Jukanti et al., 2012).

Tabla 2. Composición nutrimental de garbanzo.

Composición química (%) b.s.	Rango
Proteínas (%)	12 – 30
Carbohidrato (%)	50.6 - 70.9
Almidón	37.2 – 50.0
Azúcar	3.5 – 9.0
Fibra	10.6 – 27.3
Cenizas (%)	2.5 – 4.0
Grasas totales (%)	3.1 – 7.42
Grasas saturadas	0.46 – 1.11
Grasas monoinsaturadas	0.58 – 1.40
Grasas poliinsaturadas	2.04 – 4.94
Vitaminas (mg/100g)	
Tiamina (B1)	0.028 – 0.40
Riboflavina (B2)	0.55
Niacina (B3)	0.15 – 0.30
Piridoxina (B6)	1.6 – 2.9
Ácido Fólico	150
Vitamina C	2.15 – 6.00
Vitamina K	120
Minerales (mg/100g)	
Ca	105 – 220
Mg	115 – 212
Fe	4.3 – 7.6
Cu	0.5 – 1.40
Zn	2.8 – 6.11
Mn	1.21 – 4.8
Na	21 – 24
K	878 – 926
P	398
Cr	0.008

b.s. base seca. Fuente: Jukanti et al., 2012.

2.2.1 Proteínas

El garbanzo se clasifica dentro de los granos con mayor contenido proteico, y en los últimos años ha ganado mayor popularidad. Su contenido varía entre el 12-30% según la variedad (Kabuli o Desi) (Guardado-Félix et al., 2017). Las fracciones de proteínas más importantes son globulinas (56%), albúminas (12%), prolaminas (2,8%), glutelinas (18,1%) y proteínas residuales (Singh y Jambunathan, 1981). Sus proteínas se distribuyen diferencialmente en la estructura anatomía de la semilla; testa, cotiledones y embrión. Los cotiledones constituyen el 82.9% del peso total de la semilla, mientras que el embrión y la testa constituyen una pequeña proporción. El embrión contiene 52.1% proteína mientras que el cotiledón 24.8% y la testa de la semilla 4.1% (Singh y Jambunathan, 1981).

El embrión es rico en albúminas mientras que los cotiledones en globulinas y la cubierta de la semilla en glutelinas y prolaminas (Serrano-Sandoval et al., 2019). Las globulinas actúan como proteínas de almacenamiento, las cuales representan una buena fuente de energía y nitrógeno reducido, lo cual es esencial para la germinación y el crecimiento de las plántulas. Además, comprenden aproximadamente el 50% de las proteínas de la semilla de garbanzo y son compuestas por dos grandes grupos; el 11S conocido como legumina (320-400 kDa) y el 7S denominado vicilina (145-190 kDa), siendo clasificados según sus coeficientes de sedimentación (Guardado-Félix et al., 2017).

El garbanzo es una de las pocas legumbres que contiene cantidad significativa de glutelinas que se consideran la fracción principal en granos de cereales. Las glutelinas pertenecen a la familia de las globulinas 11-12S y son estructuralmente similares a las globulinas (Takaiwa et al., 1999). Sin embargo, existe poca información sobre la caracterización molecular de las glutelinas, tales como secuencias de péptidos, secuencias de aminoácidos, propiedades biológicas y funcionales (Serrano-Sandoval et al., 2019).

Las albúminas, están implicadas en mecanismos defensivos y estos han sido descritos como albúmina PA2 y albumina PA1 o 2S. La albúmina de garbanzo 2S (~20 kDa) está compuesta por dos polipéptidos de 10 y 12 kDa. Su masa molecular es de 20 kDa. La composición de aminoácidos muestra que es rica en aminoácidos azufrados, principalmente cisteína con composición del 4.6% aminoácido total. La subfracción de albúmina 2S es una proteína globular compacta, como sugiere la estructura disulfuro reportada para la albúmina 2S de altramuz (*Lupinus albus* L.) (Serrano-Sandoval et al., 2019).

La fracción de globulina es deficiente en metionina y cisteína, mientras que las fracciones de albúmina y glutelina contienen una cantidad ligeramente mayor de estos aminoácidos. Aunque la fracción de globulina tiene una cantidad baja de aminoácidos azufrados, el garbanzo se considera una fuente de proteína de alta calidad) (Serrano-Sandoval et al., 2019).

La calidad de una proteína se estima comparando su composición de aminoácidos con respecto a una proteína estándar (FAO", 1991), en donde se analiza el perfil de aminoácidos esenciales y sus aminoácidos limitantes acorde a las recomendaciones para niños en edad preescolar (FAO/OMS/ONU, 2007). En el garbanzo se han reportado los siguientes parámetros de calidad proteica: 52 a 85% de valor biológico (BV), 1.2 a 2.64 proporción de eficiencia proteica (PER), 76 a 92.8 de digestibilidad verdadera (TD) y 87 a 92 de utilización neta de proteínas (Wood et al., 2011).

2.2.2 Carbohidratos

Los carbohidratos son importante fuente de energía en el garbanzo, los cuales corresponden a más del 50% de su peso. Entre los carbohidratos presentes se encuentran monosacáridos (ribosa, glucosa, galactosa y fructosa), disacáridos (sacarosa y maltosa) y oligosacáridos (estaquiosa, ciceritol, rafinosa y verbascosa). El contenido de estos compuestos varía dependiendo la variedad y tipo de grano (Wood et al., 2011). Existen en el

garbanzo dos grupos principales de oligosacáridos, los cuales son de la familia rafinosa y galactosil cicitolos (Jukanti et al., 2012). Los oligosacáridos no pueden ser absorbido o degradado en humanos debido a la ausencia de la enzima α -galactosidasa. De acuerdo a literatura el contenido total de oligosacáridos en garbanzos crudos varía de 0.122 a 14.53g/100 g, siendo la estaquiosa la más abundante (0.013 a 5.94 g/100 g) seguido de rafinosa (0.011 a 5.02 g/100 g), ciceritol (0.22 a 6.72 g/100 g) y verbascosa (0.004 a 0.81 g/100 g) (Milán-Noris et al., 2019).

El garbanzo también contiene fibra dietaria, la cual es definida por la FAO como los componentes de la dieta de origen vegetal, que son resistentes a las enzimas digestivas del hombre y químicamente esta representa por ser la suma de los polisacáridos que no son almidones ni lignina. Esta misma se clasifica en soluble e insoluble, donde soluble se digiere y/o fermenta lentamente en el colon lo cual ayuda al crecimiento de extensa gama de microorganismos que comprenden la microbiota intestinal e insoluble es metabólicamente inerte (Jukanti et al., 2012). La concentración de fibra está directamente relacionada al porcentaje de testa, el cual varía según la variedad (Milán-Noris et al., 2019).

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 α (1-4) para formar moléculas lineares y es ramificado por enlaces α (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 et al., 2012). El contenido de almidón en garbanzo varia de 41 a 50% del total de los carbohidratos (Jukanti et al., 2012). 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 et al., 2014). Dentro del almidón total contenido en el garbanzo, 35% es considerado AR y el resto almidón digerible (Jukanti et al., 2012). La digestibilidad del almidón en leguminosas es bajo comparado con el del almidón de cereales. La velocidad a la cual el almidón de leguminosas es digerido es 45% menor que en cereales (Jukanti et al., 2012; Rebello et al., 2014).

2.2.3 Lípidos

El contenido de lípidos en garbanzo varía de 2.7 a 6.4 % en granos tipo desi y de 3.4 a 8.8 % para kabuli (Jukanti et al., 2012). En este grano los ácidos grasos insaturados corresponden el 67% de los lípidos totales, siendo el linoléico (omega- 6) y linolénico (omega- 3) los más sustanciales. Los granos tipo desi contienen de 46-62% de ácido linoléico mientras que en kabuli se presentan rangos de 16-56%. El contenido de ácido Oleico varía de 18-23% y de 19-32% para desi y kabuli, respectivamente (Avalos-Castro et al., 2023). El ácido linoléico posee actividad hipocolesterolémica y logra reducir el riesgo de aterosclerosis y enfermedades coronarias. Un contenido alto de ácido linoléico en garbanzo podría relacionarse a los niveles bajos de colesterol sérico en dietas que incluyen esta leguminosa (Pittaway et al., 2008).

2.2.4 Vitaminas y minerales

El grano de garbanzo es una buena fuente de algunas vitaminas del grupo B (Tiamina, Niacina, Piridoxina y ácido Fólico), contiene de 150-557 µg/g de folatos; el ácido fólico podría ayudar en la prevención de algunos tipos de cáncer inducidos por daños al ADN (Milán-Noris et al., 2016). También, cuenta con 4 mg de vitamina C /100 g, sin embargo, esta puede ser destruida fácilmente durante el procesamiento o por tiempos extensos de almacenamiento. Peculiarmente en este grano la vitamina A se localiza como

provitamina A, en forma de carotenoides, los cuales brindan el color amarillo a los cotiledones (Tarzi et al., 2012) y dentro de este grupo destacan Luteína y Zeaxantina los cuales se asocian en la prevención de enfermedades como aterosclerosis y degeneración macular relacionada con la edad (IMFNB, 2001). De igual importancia se encuentra la vitamina E (Tocoferoles y Tocotrienoles) en concentración de 13.7 mg de vitamina E/ 100g, la cual ayuda a prevenir la formación de coágulos en sangre y el bloqueo de carcinógenos de estómago (Saldeen y Saldeen, 2005). Con respecto a la vitamina K, el garbanzo cuenta con cantidades bajas en comparación con vegetales de hojas verdes, pero con valores más altos respecto a diversas frutas y productos animales; esta es requerida para la coagulación de la sangre en formación de huesos y salud vascular (USDA/ARS, 2005).

La semilla cruda de garbanzo proporciona en promedio 5 g de hierro, 4.1 mg de zinc, 138 mg de magnesio, 160 mg de calcio y 8.2 µg por cada 100 gramos. No hay diferencias significativas en el contenido de minerales entre genotipos desi y kabuli a excepción del calcio, que se presenta en mayor cantidad en las semillas de garbanzo desi (154 vs 210 mg/100 g). Minerales como zinc, cobre y selenio, también llamados micronutrientes, desempeñan un papel fundamental en el mantenimiento y refuerzo de los sistemas inmune y antioxidante. Así como también, afectan la compleja red de genes (nutrigenómica) con actividades pro y anti-inflamatoria (Mocchegiani et al., 2014). Por otra parte, la biodisponibilidad de minerales, especialmente en hierro se ve mejorada, durante el bioproceso de germinación, debido a la reducción de fitatos y al incremento en el contenido de ácido ascórbico (Bains et al., 2011).

2.3 Nutraceúticos

El grano de garbanzo es una fuente rica de algunos compuestos bioactivos que ayudan a reducir el riesgo de enfermedades crónico-degenerativas. Entre los cuales se encuentran fitoesteroles, compuestos

fenólicos, saponinas, carbohidratos no digeribles, péptidos bioactivos, entre otros. El contenido de nutraceuticos en garbanzo crudo se presenta en la **Tabla 3.**

Tabla 3. Nutracéuticos presentes en el garbanzo.

Familia de compuestos nutraceuticos: Efectos biológicos	Grupos/ Compuestos identificados	Contenido Total
Fitoesteroles: Efecto hipocolesterolémico antioxidante, antiinflamatorio y prevención de cáncer.	β -sitoesterol glucosilado, β -sitoesterol, Campesterol y Estigmaesterol.	75 mg/100 g
Compuestos fenólicos: Efecto estrogénico, antioxidante, antiinflamatorio, antimicrobiano y prevención del cáncer.	Isoflavonas (Biochanina A, Formonetina y Biochanina A glucósido)	3078 μ g/Kg
	Flavonas (Luteonina).	134 μ g/g
	Flavonoles (Catequina, Epicatequina, Epilocatequina, Epicatequina galato, Quercitina, Kaempferol y Mirecitina).	2432 μ g/g
	Ácidos fenólicos (Clorogénico, Gálico, Ferúlico, Hidroxibenzoico, Cumarico, Siringico, Vanilico, Cafeico, Shikimico, Protocatecuico, Sinapico y Dihidroxibenzoico).	1258 μ g/g
	Antocianinas (Cianidina, Petunina y Delfinina).	589 μ g/g
Saponinas: Efecto hipocolesterolémico, prebiótico y prevención del cáncer.	Soyasaponina β g, Soyasaponina I, Lablab saponina Im Soyasaponina α g, Soyasaponina II y Kakasaponina II y III.	2173 mg/Kg
Carbohidratos: Efecto hipocolesterolémico, prebiótico, prevención del síndrome metabólico y cáncer.	Almidón resistente	310 g/Kg
	Oligosacáridos (Rafinosa, Estaquinosa, Verbascosa y Ciceritrol).	6.3 a 8.6%
	Fibra dietaria	Soluble: 1.3 g/100g

Fuentes: Harris y Ferguson, 1993; Park et al., 2001; Choi et al., 2002; De Almeida et al., 2006; Güçlü-Üstündağ y Mazza, 2007; Hämäläinen et al., 2007; Heinonen, 2007; Chen et al., 2008; Paniagua-Pérez et al., 2008; Vivancos y Moreno, 2008; Xiaoli et al., 2008; Crozier, Jaganath y Clifford, 2009; Silva-Cristobal et al., 2010; Sreerama, Sashikala y Pratape, 2010; Aguilera et al., 2011; Kim et al., 2012; Konar et al., 2012; Nyström et al., 2012; Al-Sheraji, 2013; Sagratini et al., 2013; HaiRong et al., 2013; Threapleton et al., 2013; Fratianni et al., 2014; Hu et al., 2014; Xiao et al., 2014; Hithamani y Srinivasan, 2014; Chen et al., 2015.

2.4 Efecto benéfico

El consumo de garbanzo ha sido asociado con algunos beneficios a la salud que pueden reducir el riesgo de enfermedades crónico-degenerativas. Estos efectos se han relacionado por la presencia de fibra soluble, isoflavonas, fitoesteroles y saponinas, considerando al garbanzo como potencial alimento funcional (Jukanti et al., 2012). El consumo del garbanzo se le atribuye la disminución de factores de riesgo de enfermedades crónico-degenerativas, como diabetes, síndrome metabólico (Nestel et al., 2004; Pittaway et al., 2008; Udaogora, 2012); cáncer (Chen et al., 2015), inflamación y obesidad (Hosseinpour-Niazi et al., 2014; Milán-Noris, 2018).

En los últimos años, la capacidad antioxidante en el garbanzo se ha estudiado ampliamente debido a la presencia de numerosos compuestos bioactivos, entre ellos, péptidos y polifenoles (Gupta y Gupta, 2017). Los compuestos fenólicos se le atribuye un efecto positivo a la salud debido a su propiedad antioxidante. El garbanzo contiene cantidades considerables de compuestos fenólicos que incluyen flavonoides, flavonoles, proantocianidinas oligoméricas y poliméricas. Otra clase de compuestos fenólicos que se encuentran en los garbanzos se conocen como isoflavonas, que tienen muchas funciones biológicas, como actividades antioxidantes, estrogénicas, antifúngicas y antibacterianas (Li et al., 2008).

Las semillas de garbanzo que tienen testa pigmentada exhiben niveles más altos de actividad antioxidante, lo que las convierte en un alimento funcional además de proporcionar proteína a la dieta (Segev et al., 2010). La capacidad antioxidante del garbanzo puede verse influenciada por el tipo de procesamiento empleado antes de su consumo (Sandoval-Sicairos et al., 2020).

Se han realizado estudios con respecto a la capacidad antioxidante (ORAC) de garbanzo tipo desi, reportando rangos de 858 a 1140 $\mu\text{mol TE}/100$ g muestra base seca en grano originario de la India (Zia-UI-Haq et al., 2008). Por otro lado, Heiras-Palazuelos (2012), publicó valores ORAC de 5011 – 5756

$\mu\text{mol TE}/100 \text{ g}$ muestra base seca en 5 genotipos de garbanzo desecados en el estado de Sinaloa, destacando el potencial que estos granos tienen como fuente antioxidante.

Además de presentar propiedades antioxidantes, ligado por un gran número de compuestos fenólicos, en garbanzo. También se han encontrado la presencia de péptidos con actividad antioxidante (Kou, 2013). Dentro de las propiedades antioxidantes relacionadas a estos péptidos se incluyen su habilidad para inactivar especies de oxígeno, aparear radicales libres de oxígeno, además de impedir la penetración de iniciadores de la oxidación de lípidos por la formación de una capa protectora alrededor de las moléculas de lípidos (Moure et al., 2006).

Un grupo de investigadores evaluaron la capacidad antioxidante de hidrolizados de albumina de garbanzo, en donde encontraron porcentajes de 23% a 43% de inhibición mediante el método DPPH, lo cual muestra el potencial antioxidante en dichos hidrolizados de este grano (Kou, 2013).

2.4.2. Enfermedades cardiovasculares y Obesidad

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) son otra causa principal de mortalidad en los países desarrollados y en desarrollo. Debido a que la hipercolesterolemia, es decir, el nivel alto de colesterol en plasma es una característica de la ECV, el impacto de la fibra dietética en el nivel de colesterol sérico ha recibido una enorme atención. El garbanzo ayuda a reducir el nivel de colesterol en plasma, ya que es una fuente rica en fibras dietéticas (Gupta y Gupta, 2017). El garbanzo tiene un papel beneficioso en el control del peso corporal, debido a que es una fuente rica en fibra dietética, conocida por su papel protector en el desarrollo y manejo de la obesidad (Gupta y Gupta, 2017).

2.4.3 Efecto prebiótico (modulación de microbiota)

La población de las bacterias benéficas y patógenas del colon es llamada microbiota. La dieta puede tener un impacto muy marcado en el ambiente del intestino incluyendo el tránsito intestinal y pH. El cambio en la ingesta de los principales macronutrientes (carbohidratos, proteínas y grasas) puede afectar significativamente la composición de la microbiota (Maccaferri et al., 2012). El filo bacterial dominante en adultos sanos son *Firmicutes*, *Bacteroidetes* y *Actinobacteria*, con baja abundancia de *Verrucomibia* y *Proteobacteria*. Las 2 especies de bacterias más dominantes en el colon de humanos que llevan una dieta occidental son *Fecalibacterium prausnitzii* y *Eubacterium rectale* que representan cerca del 8 y 4% de la microbiota respectivamente (Maccaferri et al., 2012).

Los prebióticos son carbohidratos no digeribles que son fermentados en el colon generando energía y ácidos grasos de cadena corta (SCFA) estos últimos selectivamente promueven el crecimiento de *Bifidobacteria* y *Lactobacillae* en el tracto gastrointestinal (Dwivedi et al., 2014). Los principales SCFA producidos son acetato, propionato y butirato; el primero entra a la circulación y es usado en lipogénesis, el segundo es transportado al hígado y usado gluconeogénesis, mientras que el ultimo es la principal fuente de energía de los coloncitos además de tener efecto antiinflamatorio y antitumoral (Udahogora, 2012). En el caso de la fermentación de almidón resistente la bacteria *Ruminococcus bromii* juega un papel importante (Maccaferri et al., 2012). Aunque los lípidos de la dieta son mayormente absorbidos por el humano; en estudios recientes se han encontrado lípidos (7%) en las heces. Una dieta alta en grasas puede generar reducciones en la concentración de butirato, causar inflamación en el intestino y reducción de la concentración de *Bifidobacterias* y la especie *Roseburia* (Maccaferri et al., 2012).

En la microbiota del colon existen pocas bacterias capaces de metabolizar a los compuestos fenólicos, como es el caso de *Escherichia coli*, *Bifidobacterium sp.*, *Lactobacillus sp.*, *Bacteriodes sp.* y *Eubacterium sp*

(Dwivedi et al., 2014). Las bacterias del colon actúan enzimáticamente sobre los compuestos fenólicos que no son absorbidos (90-95% del consumido), produciendo metabolitos con importancia fisiológica. *Clostridium* y *Eubacterium* son los principales géneros relacionados con el metabolismo de compuestos fenólicos como isoflavonas, flavonoles, entre otros. Además de contribuir con la modulación positiva sobre la microbiota, los compuestos fenólicos y sus metabolitos inhiben el crecimiento de bacterias patógenas (Dwivedi et al., 2014).

El consumo de fibra de garbanzo y lupino estimulan el crecimiento las Bifidobacterias del colon y contribuyen con su estado optimo del colón. Por otra parte, las rafinosas del garbanzo modulan la composición microbiana del intestino promoviendo la salud intestinal en humanos (Dwivedi et al., 2014). En los pacientes que consumieron garbanzo se encontraron menos casos con la presencia de *Clostridium histolyticum-Clostridium litusebureense*, bacterias patógenas y putrefactivas, que los que consumieron la dieta control (Fernando et al., 2010).

2.4.4. Diabetes

El consumo del garbanzo puede disminuir los niveles de glucosa en sangre, niveles de insulina y su resistencia (-54%) al compararse con el consumo de trigo (Nestel et al., 2004; Udahogora, 2012). En otro estudio no se obtuvieron resultados similares para glucosa e insulina en plasma, pero se encontraron disminuciones significativas en colesterol total y LDL en plasma en el grupo que consumió garbanzo (Nestel et al., 2004; Pittaway et al., 2008; Udahogora, 2012).

El almidón de garbanzo es más resistente a la digestión intestinal debido a su extensa propiedad de polimerización, lo que resulta en una menor disponibilidad de glucosa que provoca una entrada más lenta al torrente sanguíneo y una menor demanda de insulina (Prathapan et al., 2011). Por otra parte, el garbanzo germinado posee mayor contenido fenólico, actuando

como potenciales inhibidores de enzimas clave (α -glucosidasa y α -amilasa) asociadas con la diabetes tipo 2, lo que sugiere que se pueden generar nuevos factores que promueven la salud durante el metabolismo de las semillas (Prathapan et al., 2011). Se han explorado la incorporación de harinas de garbanzos en el desayuno, con resultados positivos pero discretos, que apuntan a un mejor control de la glicemia de los sujetos que consumieron pan elaborado con harina de garbanzos (Johnson et al., 2005). Teniendo en cuenta estos efectos antidiabéticos, los garbanzos pueden considerarse una fuente de energía principal y sin riesgos para las personas diabéticas. Además, dichos compuestos bioactivos del garbanzo pueden usarse en el desarrollo de alimentos funcionales.

2.5 hidrolizados proteínicos

La Hidrolisis proteínica consiste en la ruptura de los enlaces péptidos, generando por consecuencia péptidos de menor tamaño o incluso de aminoácidos libres. Este proceso puede realizarse de manera química o biológica. El primer método consiste en un tratamiento donde se utilizan ácidos y bases. Sin embargo, actualmente se intenta disminuir el uso de este método, ya que se ha demostrado tener efectos perjudiciales sobre la calidad nutricional del hidrolizado, debido a la destrucción de L-aminoácidos, y formación de D-aminoácidos y compuestos tóxicos como Lisinoalanina (Montoya-Rodríguez et al., 2015). En cuanto al proceso biológico, se utiliza una enzima (proteasa) la cual rompe los enlaces peptídicos. Asimismo, este proceso se realiza con temperaturas y pH más noble, evitando la formación de los compuestos indeseables antes mencionados (Girón-Calle et al., 2010). Para determinar el grado de hidrolisis, es indispensable cuantificar el porcentaje de enlaces peptídicos rotos en relación con la proteína original (Girón-Calle et al., 2010).

Los hidrolizados nacen de la búsqueda de la mejora nutricional de las proteínas de origen vegetal y animal para el uso como suplemento alimenticio

para requerimientos en la dieta y tratamientos de diversas patologías (Vilcacundo & Hernández-Ledesma, 2017). Estos son utilizados principalmente como suplementos alimenticios, debido a su alta solubilidad y adaptabilidad en alimentos líquidos; utilizándose principalmente por aquellas personas que necesitan un aporte extra de proteína, por ejemplo, para alimentación de personas de la tercera edad, alimentación enteral, parenteral y nutrición deportiva (Girón-Calle et al., 2010).

2.5.1 Enzimas durante la digestión gastrointestinal

Durante el proceso de digestión, el cuerpo produce diversas enzimas, las cuales se encargan de la degradar y absorción de los alimentos desde que son ingeridos por la boca, hasta ser desechados por el recto. Pepsina, tripsina y quimiotripsina son unas de las principales enzimas degradadoras de las proteínas, enzimas proteolíticas, en el sistema digestivo, especializándose principalmente en el rompimiento de los enlaces entre los tipos de aminoácidos, además de ayudar en la ruptura de las proteínas en sus componentes (péptidos y aminoácidos libres), los cuales así pueden ser absorbidos por la mucosa intestinal y pasar al sistema circulatorio (Fruton, 2002). Pepsina, es una endoenzima que rompe los enlaces internos de la proteína, es más eficiente en péptidos hidrofóbicos y preferentemente aminoácidos aromáticos (triptófano, tirosina y fenilalanina) (Segura Campos, 2015). Tripsina, rompe principalmente la cadena de péptidos en el grupo carboxilo de los aminoácidos lisina y arginina, a excepción cuando alguno de los dos está seguido por prolina (Sánchez-Torres et al., 2011). De igual forma, la quimiotripsina es también una enzima digestiva que se encuentra en el jugo pancreático, la cual rompe las proteínas y los polipéptidos (Fruton, 2002). Existen proteínas comerciales como pancreatina (mezcla de enzimas proteasas, amilasas y lipasas) y la alcalasa. La alcalasa pertenece a las proteínas de grupo de serina, que inicia el ataque nucleofílico en el enlace peptídico, amida, a través del residuo de serina (Meredith et al., 1978).

2.5.2 Efecto a la salud de hidrolizados/péptidos de garbanzo

A la fecha se conocen varios efectos benéficos de las proteínas del garbanzo. Estas proteínas pueden convertirse en hidrolizados por la acción de enzimas, fermentación u otros procesos. Los hidrolizados de proteínas se definen básicamente como una mezcla heterogénea de aminoácidos libres, péptidos y oligopéptidos que se generan por la acción de enzimas u otros procesos. Por otro lado, los biopéptidos o péptidos bioactivos son moléculas compuestas de 3 a 50 residuos de aminoácidos de longitud que han demostrado beneficios positivos para la salud más allá de la nutrición básica (Chalamaiah et al., 2017). Los biopéptidos podrían aislarse de la mezcla compleja para dilucidar la secuencia de aminoácidos y otras características.

Los hidrolizados proteínicos de garbanzo se producen principalmente por hidrólisis enzimática de la proteína entera, pero también pueden ser de fracciones proteínicas específicas. Aunque los hidrolizados contienen una mezcla compleja de péptidos activos e inactivos, han demostrado notables beneficios para la salud. El principal resultado notificado de hidrolizados de garbanzo es antioxidante. Yust et al., (2012) demostraron que la hidrólisis enzimática del aislado proteico de garbanzo (CPI) con alcalasa seguida de flavourzima producía hidrolizados ricos en propiedades antioxidantes. Los hidrolizados de garbanzo mostraron una actividad antioxidante significativamente mayor determinada por el ensayo de blanqueo de β -caroteno, el poder reductor y los efectos de barrido de radicales 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) en comparación con el aislado de proteína no hidrolizado. Wang et al., (2016) demostraron que los hidrolizados de proteína de garbanzo obtenidos por la acción enzimática de la alcalasa seguida de la reacción de plasteína mostraron una actividad antioxidante significativamente mayor que los homólogos obtenidos a partir de la proteína total. Los autores concluyeron que el pH era el factor que más influía en la disminución de aminoácidos libres. Los hidrolizados modificados mejoraron su actividad de barrido de radicales hidroxilos y su poder reductor. En otra investigación, se

produjeron diferentes fracciones de hidrolizados (3.5, 3.5-7 y <7 kDa) mediante digestión gastrointestinal *in vitro* a partir de garbanzos crudos o tratados térmicamente. Los hidrolizados (3.5-7 kDa) del garbanzo tratado térmicamente poseían la mayor actividad antirradical contra ABTS⁺ (IC₅₀: 41 µg/mL). Por otra parte, los hidrolizados (3.5-7 kDa) del garbanzo crudo ejercieron la mayor actividad antirradical contra DPPH y quelante del Fe²⁺ (IC₅₀: 20.94 y 52.53 µg/mL, respectivamente). El hidrolizado (>3.5kDa) del garbanzo tratado térmicamente demostró la mayor actividad estimulante del crecimiento de fibroblastos y quelante del Cu²⁺ (Karas et al., 2015).

Asimismo, algunos pretratamientos pueden potenciar la hidrólisis de proteínas y mejorar la capacidad antioxidante de los hidrolizados resultantes. Un CPI se sometió primero a alta presión hidrostática y después a hidrólisis con alcalasa. Los hidrolizados producidos a alta presión (100-300 MPa) poseían una mayor tasa de captura de aniones superóxido. El tratamiento a 200 MPa durante 20 minutos seguido del tratamiento con alcalasa produjo hidrolizados de garbanzo con la mayor actividad antioxidante. Esta combinación particular aumentó significativamente la actividad de barrido del radical superóxido (39%) y el poder reductor (0.272) (Zhang et al., 2012). Del mismo modo, para optimizar la enzimólisis, se pretrató una proteína de garbanzo con ultrasonido. Las condiciones óptimas de este pretratamiento fueron 500 W, 28 min y 48 °C. El radical hidroxilo y la reducibilidad del hidrolizado fueron 95, 97% y 1,73%. El valor de la concentración inhibitoria media (IC₅₀) del radical hidroxilo disminuyó con los hidrolizados pretratados con ultrasonidos. Se concluyó que el pretratamiento ultrasónico mejoró la hidrólisis enzimática y la actividad antioxidante de los hidrolizados (Du et al., 2013). Últimamente, otros procesos como la germinación se han utilizado como pretratamiento para producir hidrolizados. Se produjeron hidrolizados de albúmina, globulina y glutelina mediante el proceso de germinación en presencia de selenio, seguido de una hidrólisis gastrointestinal *in vitro*. Los hidrolizados de la fracción de glutelina <10 kDa mostraron la mayor capacidad

antioxidante celular en células Caco-2 (Serrano-Sandoval et al., 2019). Además, Chalamaiah et al., (2017) han demostrado que durante el proceso de germinación hay hidrólisis de la proteína del garbanzo.

En cuanto a las propiedades hipocolesterolémica de hidrolizados y los péptidos de garbanzo se ha encontrado lo siguiente. Los hidrolizados obtenidos a partir de CPI con hidrólisis enzimática mostraron una actividad hipocolesterolémica significativamente mayor (inhibición de la solubilidad micelar *in vitro*, 50%) que el CPI (Yust et al., 2012). Asimismo, un hidrolizado de albúmina de garbanzo producido por proceso enzimático (alcalasa y flavorzima) demostró efectos antihiperlipidémicos. Los hidrolizados mostraron *in vivo* una capacidad dependiente de la dosis para disminuir los niveles séricos de lípidos (colesterol total sérico, triglicéridos, lipoproteína de baja densidad “LDL”), mientras que aumentaron los niveles de colesterol de lipoproteína de alta densidad (HDL) (Xue et al., 2015). Recientemente, se evaluaron los efectos de los hidrolizados de garbanzo CPH8 (DH=8%) y (DH=17%) en el perfil lipoproteico y en el estado oxidante en ratas alimentadas con colesterol. El colesterol sérico total y los niveles de colesterol LDL y HDL se redujeron por el CPH17 disminuyeron en ambos grupos alimentados con hidrolizados y aumentaron la actividad de la lecitina-colesterol aciltransferasa y la apolipoproteína A4. Los niveles de colesterol hepático total y esterificado se multiplicaron por 2 en ambos grupos tratados. Solo el tratamiento con CPH17 disminuyó los contenidos de malondialdehído en VLDL y HDL y mejoró la actividad de la glutatión peroxidasa (Milán-Noris et al., 2016).

Otro enfoque terapéutico prometedor contra algunas enfermedades no transmisibles es la eliminación de las especies reactivas del oxígeno (ERO) y los radicales con quelantes metálicos. Los quelantes metálicos forman complejos solubles y estables que se eliminan a través de las heces o la orina (Milán-Noris et al., 2016). Los hidrolizados de garbanzo se purificaron mediante cromatografía de afinidad metálica y se fraccionaron mediante cromatografía de filtración en gel. Los hidrolizados quelantes de hierro de las

fracciones mostraron una mayor actividad quelante de hierro que los homólogos no purificados (Torres-Fuentes et al., 2015). Posteriormente, se evaluó la capacidad del hidrolizado de garbanzo para inhibir la peroxidación lipídica mediada por cobre. Los hidrolizados purificados y fraccionados se evaluaron mediante la inhibición de la oxidación de β -caroteno, la inhibición de la oxidación de ácidos grasos mediada por cobre y la inhibición de la oxidación de lipoproteínas de baja densidad mediada por cobre. Los hidrolizados de garbanzo con mayor contenido de aminoácidos de histidina ejercieron los mayores efectos antioxidantes. Los autores confirmaron la gran capacidad de la histidina para unirse a metales de transición y actuar como donante (Torres-Fuentes et al., 2015).

Además de estos beneficios para la salud, los hidrolizados de garbanzo han demostrado un efecto anticancerígeno. Los estudios in vivo demostraron que los hidrolizados de albúmina disminuían significativamente el volumen tumoral y aumentaban la tasa de inhibición tumoral. Además, la administración a ratones de los hidrolizados provocó un aumento de la actividad de la superóxido dismutasa (SOD) y una disminución del malondialdehído hepático (MDA) (Xue et al., 2015). Sánchez Chino et al., (2019) evaluaron el efecto inhibitorio de la proteína hidrolizada de garbanzo sobre el cáncer colorrectal inducido por azoximetano (AOM) en ratones alimentados con una dieta hipercalórica. La administración de hidrolizados de proteína de garbanzo redujo significativamente el colesterol y el índice aterogénico. Además, el consumo de hidrolizados redujo el número de criptas aberrantes del colon en una relación relacionada con la dosis.

Algunos péptidos bioactivos han sido purificados y secuenciados de garbanzo con el fin de evaluar sus efectos relacionados con la salud, principalmente en relación con su estructura y características físicas (Kou, 2013). Se obtuvo un péptido antioxidante derivado de un hidrolizado de albúmina de garbanzo mediante hidrólisis de alcalasa y flavorzima. El péptido se identificó fraccionando el hidrolizado de albúmina por cromatografía de

exclusión por tamaño. Según los ensayos DPPH y TEAC, el péptido de garbanzo (CPe)-III mostró la mayor actividad antioxidante. La secuencia del péptido se identificó como RQSHFANAQP (1155 Da) mediante LC-ESI-MS/MS (Kou, 2013). Por otra parte, un pentapéptido bioactivo identificado como NRYHE se evaluó como antioxidante en las líneas celulares Caco-2 y HT-29. Según los resultados del análisis, el pentapéptido reguló tres importantes enzimas antioxidantes: catalasa, glutatión reductasa y glutatión peroxidasa. La respuesta de estas enzimas fue dependiente de la dosis. Asimismo, el tratamiento con pentapéptidos modula la vía Nrf2 mediante la activación de promotores clave (Guo et al., 2014). De la misma manera, la proteína de garbanzo fue hidrolizada por digestión enzimática, purificada con cromatografía de afinidad y fraccionada. Se identificaron los péptidos antioxidantes de las proteínas de garbanzo y se evaluaron el poder reductor, la eliminación de radicales libres (FRSA) y la actividad antioxidante celular (AAC). Las secuencias identificadas correspondían a proteínas de leguminosas: ALEPDHR, TETWNPNHPEL, FVPH y SAEHGSLH. Los péptidos altamente antioxidantes contenían residuos de histidina, triptófano y fenilalanina, que se consideran importantes donantes de hidrógeno (Torres-Fuentes et al., 2015). Xue et al., (2015) sintetizaron un péptido de garbanzo (CPe-III) derivado de su fracción de albúmina soluble en agua. Se evaluaron los ensayos de poder reductor, radical hidroxilo, radical DPPH, barrido de radicales ABTS y DCFH-DA tras el tratamiento con el péptido sintético RQSHFANAQP. El efecto antioxidante mostró una actividad significativa dependiente de la dosis, y el péptido sintetizado inhibió la proliferación de células de cáncer de mama. En otra investigación, se obtuvieron péptidos de garbanzo mediante la hidrólisis enzimática de enzimas seguida del fraccionamiento y purificación de los hidrolizados. Las secuencias (DHG, VGDI) se dilucidaron mediante ESI-MS y ESIMS/MS y se identificaron como las que ejercían mayores efectos antioxidantes. Además, estos péptidos no mostraron actividad hemolítica (Torres-Fuentes et al., 2015).

Por otra parte, (Milán-Noris, 2018) evaluaron el efecto antiinflamatorio de péptidos de concentrados proteicos de garbanzo Desi y Kabuli cocido y germinado. Los concentrados proteicos fueron hidrolizados por pepsina-pancreatina, en una digestión y absorción gastrointestinal *in vitro* simulada. El efecto antiinflamatorio de los digeridos de garbanzo germinado fue 2 veces superior al de los digeridos de garbanzo cocido. Para identificar qué péptidos contribuían principalmente a los efectos antiinflamatorios de los digeridos proteicos de garbanzos germinados de los cultivares Kabuli y Desi, ambas muestras se fraccionaron mediante RP-LC-MS. La separación resultante produjo 3 fracciones para cada cultivar. La F3, de ambos tipos de garbanzo, se analizó posteriormente por LC-MS/MS, en la que el perfil peptídico fue similar para ambos cultivares. Se identificaron con éxito un total de 24 secuencias peptídicas diferentes (SEGGLIETWNPSNK, NEDEEKGAIVKVK, VKGGLSIITPPEKEPR, GGLSIITPPEKEPR, GGLSIITPPEKEPRQK, LHQNIGSSSSPDIYNPQAGR, LHQNIGSSSSPDIYNPQAGRIK, GRRGSEESEEGDAIVK, GSEESEEGDAIVK, GSEESEEGDAIVK, SRNPIYSNKFGK, ISREQIEELSKNAK, QQSQETDVIVK, EQIEELSKNAK, ISREQIEELSKNAK, VLLEEQEQKPK, EQIEELSKNAK, SPIYSNKFGK, DVGQKTKEVGQDIQAK, IFKISKEDVHGLAPK, HIVDKLQGRDEDEEK, SREEETTEWEEEVAK y FSGNRGPLVQPR) como fragmentos de proteínas de almacenamiento, estructurales, de reserva de nutrientes y catabólicas. Este estudio demostró el potencial de los concentrados de garbanzos germinados para ejercer un efecto antiinflamatorio en el colon. Estos resultados aportan la idea de que, al igual que los hidratos de carbono no digeribles y los fenoles, la fracción proteica hidrolizada también puede contribuir a la actividad antiinflamatoria del garbanzo.

3. HIPÓTESIS

El bioproceso de germinación en presencia de selenio y la simulación de digestión gastrointestinal *in vitro* liberan compuestos bioactivos que incrementan la capacidad antioxidante de los granos de garbanzo pigmentado.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Determinar el efecto de la germinación, selenización y digestión gastrointestinal *in vitro* sobre el contenido de compuestos bioactivos en garbanzo negro y rojo.

4.2 Objetivo específico

1.- Evaluar el efecto de la germinación con y sin selenito de sodio sobre las características físicas de garbanzo rojo y negro.

2.- Cuantificar la acumulación de selenio en garbanzo rojo y negro por efecto de la germinación en presencia de selenito de sodio.

3.- Caracterizar el efecto del tiempo de germinación con y sin selenito de sodio sobre el perfil de proteínas y contenido de proteína soluble de garbanzo rojo y negro.

4.- Determinar el efecto del tiempo de germinación con y sin selenito de sodio sobre el contenido de fenólicos totales y actividad antioxidante de garbanzo rojo y negro.

5.- Caracterizar efecto del tiempo de hidrolisis en digestión gastrointestinal sobre el contenido de compuestos bioactivos en los germinados-selenizados de garbanzo rojo y negro.

5. MATERIALES Y METODOS

5.1 MATERIALES

Se trabajó con dos cultivos de garbanzo tipo Desi (rojo ICC5383 y negro ICC 3761), de la colección del Banco Mundial de Germoplasma del Instituto Internacional de Investigación de Cultivos de Trópicos Semiáridos (ICRISAT) los cuales fueron sembrados en el valle de Culiacán en el campo experimental del Instituto Nacional de Ciencias Forestales, Agricultura y Ganadería (INIFAP), localizado en Culiacán, Sinaloa, México. Las semillas de garbanzo se cosecharon en abril-mayo del 2019, se limpiaron para remover el material extraño, y posteriormente se almacenaron en doble bolsa hermética en un contenedor a -20°C hasta su uso.

5.2 METODOS

El proyecto consistió en dos etapas de acuerdo con el diagrama experimental (**Figura 4**). La etapa 1 consistió en evaluar el efecto de la germinación y selenización sobre el contenido de compuestos bioactivos. También las propiedades físicas y verificar la incorporación de selenio en el grano. En la etapa 2 se caracterizó el efecto de la simulación de digestión gastrointestinal sobre el contenido de compuestos bioactivos en las harinas de garbanzo germinado y selenizado.

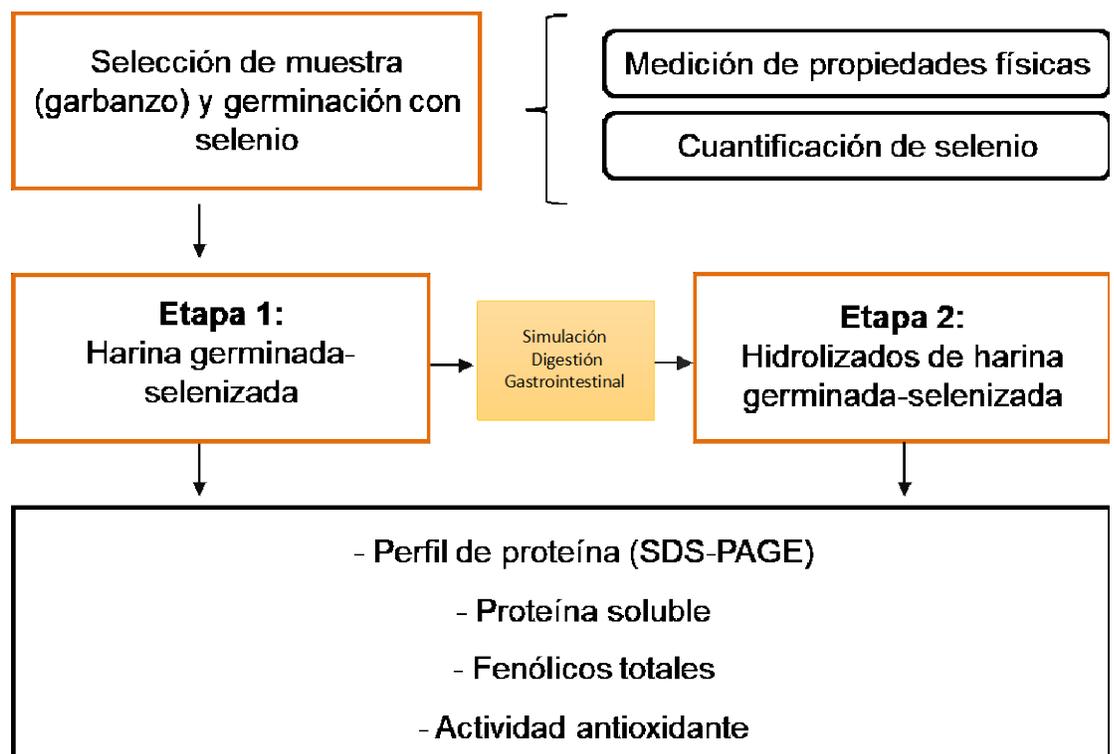


Figura 4. Diagrama experimental.

5.2.1. Germinación

Para el proceso de germinación se utilizó la metodología previamente descrita (Guardado-Félix et al., 2017; Milán-Noris, 2018). Brevemente, las semillas de garbanzo (100g) se desinfectaron en 200 mL de una solución de hipoclorito de sodio al 0.12% durante 3 minutos, y después se lavaron 3 veces con agua destilada. Posteriormente las semillas se hidrataron en 0.85 volúmenes de agua destilada que contenía 2 mg selenito de sodio durante 6 h a 25 °C con agitación cada 15 minutos. Una vez hidratadas las semillas se transfirieron y dispersaron uniformemente en bandejas de plástico. El proceso de germinación se llevó a cabo en una incubadora sin luz a 24 ± 1 °C con una humedad relativa del 80%. Se recolectaron muestras cada 24 horas, hasta el día 5 de germinación. Las semillas germinadas resultantes se secaron en un deshidratador a 60°C por 25 horas, molieron y almacenaron a -20 °C hasta su análisis.

5.2.2. Propiedades físicas

Las propiedades físicas de las semillas germinadas se realizaron de acuerdo con lo reportado por Guajardo-Flores et al., (2012) Donde se contaron los granos germinados en lotes de 100 por triplicado. También se determinó el tamaño del brote midiendo con un vernier 25 semillas por lote. Estas propiedades se midieron diariamente durante el proceso de germinación.

5.2.3. Determinación de selenio en grano

El contenido de selenio en los brotes de garbanzo se determinó en base a lo reportado por (Guardado-Félix et al., 2017). Los brotes fueron digeridos en solución acida (HNO_3 al 77%). La mezcla resultante se pasó a un digestor en un sistema de microondas cerrado (Mars 5 CEM, Matthews, NC, EE. UU.), con el siguiente programa: rampa de 15 minutos de temperatura ambiente a

180 ° C; mantenido a 180 °C durante 10 min y luego la temperatura se redujo a 50 °C en 20 min. Después de la digestión, las muestras se ajustaron a 5 mL con agua desionizada, se transfirieron a viales de 20 mL y se almacenaron a 4°C hasta el análisis. El contenido de selenio de la digestión ácida se midió usando un espectrómetro de masas de plasma acoplado inductivamente (ICP / MS) (Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA) con un nebulizador concéntrico de vidrio Tipo C (Meinhard, Golden, CO, EE. UU.). La tasa de acumulación de selenio se calculó considerando el selenio total que se absorbió por 100 g de semilla hidratada con 2 mg de Na₂SeO₃.

5.2.4. Extractos metanólicos

La preparación de extractos metanólicos se llevó a cabo de acuerdo con la metodología descrita por (Milán-Noris, 2018) con algunas modificaciones. La muestra se disolvió 1/10 en metanol (80%). Posteriormente la muestra se sonicó por 10 min, luego se centrifugo (3,000 rpm, 4°C) por 10 min. Se recolecta el sobrenadante y se repite la extracción. El sobrenadante es llevado a sequedad y almacenado a -20°C. El extracto es resuspendido a 1 mL para su análisis.

5.2.5. Extracto de proteína

Su elaboración se realizó de acuerdo con lo reportado por Montoya-Rodríguez et al., (2015) con modificaciones. El extracto de proteína se preparó usando una solución de buffer de fosfato salino (PBS) con un pH de 7.4, en una relación de 10 mg de harina en 1 mL de buffer. Consecutivamente la muestra se puso en sonicación 5 min, inmediatamente se centrifugo (10,000 g, 4°C) durante 10 min. El sobrenadante se recolecto y almaceno a -20°C hasta su uso.

5.2.6. SDS-PAGE

El ensayo se realizó en base al método Laemmli (1970). Primeramente, las muestras fueron diluidas en buffer Laemmli (Bio-Rad Laboratories) con 5%- β -mercaptoetanol y colocadas a ebullición 5 minutos previos a cargarlas en el gel de separación. Las bandas de los extractos de proteína de garbanzo (crudo, germinado e hidrolizado) se analizaron mediante SDS-PAGE utilizando geles de 15% de poliacrilamida (Bio-Rad). Se utilizó el estándar de peso molecular de proteínas Dual color (Bio-Rad). La etapa de electroforesis se realizó a 110 Voltios durante 120 minutos en una solución fijadora de 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, ácido acético glacial 50 mL) durante toda la noche. Una vez teñidos los geles, fueron lavados 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 obtuvieron utilizando el sistema de imagen Gel Doc™ XR+ Gel Documentation System de Bio-Rad.

5.2.7. Medición de proteína soluble (DC-Protein Assay)

El contenido total de proteína soluble se determinó mediante el DC-Protein Assay kit (Bio-Rad Laboratories, Hércules, CA) para microplacas. Este es un ensayo colorimétrico para la concentración de proteína. La cantidad de proteína soluble se calculó utilizando una curva estándar de albumina de suero bovino. Para la creación de la curva estándar se preparó la siguiente formulación: 15 mg de albumina de suero bovino fueron disueltos en 10 mL de PBS (1500 μ g/mL) y se hicieron 7 diluciones posteriores hasta 10 μ g/mL. La curva estándar se realizó el mismo día de la medición y se preparó con el mismo PBS con el que se prepararon las muestras. Antes de cargar la muestra en la microplaca, se realizó una dilución 1:20. Una vez realizada la curva

estándar y las diluciones se procedió a llenar la placa de la siguiente forma: se agregaron 5 μL de cada uno de los puntos de la curva estándar y 5 μL de la muestra en una microplaca (transparente). Posterior a esto se añadieron 25 μL de reactivo A (solución de tartrato de cobre alcalino) y 200 μL de reactivo B (reactivo folin diluido) (Bio Rad 500-0116). Después de agregar los reactivos, se dejaron reposar 15 minutos y posteriormente se midió su absorbancia en un espectrofotómetro a 690 nm. Este estudio se basa en la interacción de los aminoácidos aromáticos con los reactivos A y B. Altos niveles de aminoácidos aromáticos nos indican mayor contenido de proteína soluble. Además, el color de la muestra cambia de claro a azul, indicando que entre más intenso es la tonalidad de azul, mayor es su contenido de proteína soluble presente en la muestra.

5.2.8. Determinación del contenido de fenólicos totales (CFT)

El contenido de fenólicos totales se determinó en base al método colorimétrico de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton, Orthofer y Lamuela-Raventós (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_2 , 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. Primeramente, en cada uno de los microtubos se colocó 100 μL de la curva/muestra, posteriormente se añadió 50 μL del reactivo Folin-Ciocalteu 2N, pasados 5 min se agregó 400 μL de carbonato de sodio 2N después de 5 minutos, se agregó 1 mL de agua destilada. Posterior a eso las muestras fueron incubadas a temperatura ambiente durante 90 minutos y una vez finalizado el tiempo, se colocaron 200 μL de cada muestra a una microplaca y se tomó lectura de absorbancia a 740 nm. La cuantificación se llevó a cabo utilizando una curva de

ácido gálico y los resultados de CFT se expresaron en mg Equivalentes de ácido gálico (EAG)/ g muestra.

5.2.9. Actividad Antioxidante

La actividad antioxidante de las muestras de garbanzo se determinó utilizando el ensayo de capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC), de acuerdo con el método descrito por el ensayo ORAC, está basado en el grado de inhibición de la fluoresceína (FL) como sustrato de oxidación y como agente oxidante el generador de radicales libres peróxido el cual es inducido por descomposición térmica de compuesto 2,2'-azobis (2-metilpropionamida) dihidroclorado (AAPH). La solución de FL (1.2 mM) se preparó pesando 39.87 mg de FL, disueltos en 100 mL de buffer fosfato salino (PBS) (75 mM, pH 7.4), posteriormente fue almacenado en condiciones de refrigerador en ausencia de luz. En base a la muestra y FL se elaboró una solución diluida (10 μ M). Para el ensayo se utilizó una solución (0.1 μ M) la cual fue preparada diariamente, para la cual se utilizaron 0.25 mL de la solución diluida y se le añadieron 25 mL de PBS. La solución de AAPH (200 mM) se preparó tomando 207 mg de AAPH más 5 mL de PBS. Se utilizó un estándar de 1 mM de solución Trolox (análogo de vitamina E), preparado en solución PBS. Se tomaron 25 μ L de muestra las cuales se diluyeron en 75 mM de PBS, posteriormente fueron transferidas a las celdas del espectrofotómetro (Synergy TM HT Multidetección, Biotek, Inc., VT), donde se les adicionó 150 μ L de FL y 25 μ L de AAPH, se mezclaron e incubaron a 37 °C durante 30 minutos, la determinación de fluoresceína se realizó en intervalos de 2 minutos durante 60 min (485 nm para absorción y 538 nm para emisión). Los resultados se calcularon basándose en las diferencias de área bajo la curva cayente fluorescente entre el blanco y las muestras y se expresan como micro moles de equivalentes de trolox (μ mol ET) /mg de PS en los hidrolizados y μ mol de TE/100 gr, BS para las harinas germinadas.

5.2.10. Simulación de digestión gastrointestinal *in vitro*

La simulación de digestión gastrointestinal *in vitro* se realizó en harinas de garbanzos germinados por 5 días en presencia o ausencia de selenito de sodio. La hidrólisis se realizó acorde a la metodología de Sandoval-Sicairos, 2020 con modificaciones. El primer paso fue disolver la muestra en agua (1:20 p/v), se ajustó a 37°C y pH 2. Posteriormente se pasó a digerir con pepsina [EC 3.4.23.1, ≥ 250 unidades/mg; enzima/sustrato, 1:20 (p/p)] durante 2 horas. La digestión gástrica se detuvo incrementando el pH a 7.5 para iniciar una subsecuente digestión intestinal con pancreatina [4x USP; enzima/sustrato, 1:20 (p/p); pH 7.5] a 37°C durante 2 horas. La digestión se detuvo bajando pH a 4 y calentando a 75°C durante 20 minutos. Una vez terminados los digeridos transitaron a ser centrifugados a 20000 x g, 4°C durante 20 min. Durante la digestión se tomaron alícuotas al tiempo de 30, 60, 90, 120, 180, 210 y 240 minutos, las cuales se filtraron y almacenaron -20 °C para el posterior análisis de perfil de proteína, capacidad antioxidante, contenido de proteína soluble y compuestos fenólicos.

5.2.11. Análisis estadístico

Los datos se reportaron como la media \pm desviación estándar de 3 réplicas. Los datos se analizaron mediante ANOVA de una o dos vías seguido de la prueba de Tukey para detectar diferencias de acuerdo con las variedades de garbanzo, contenido de selenio y los tiempos de germinación o hidrólisis. El análisis estadístico se llevó a cabo mediante el software JMP 14 del instituto SAS (Cary, NC, EE. UU.). Un valor de $p < 0.05$ se consideró significativo.

6. RESULTADOS

6.1. Efecto del tiempo de germinación con selenito de sodio sobre características físicas de garbanzo pigmentado.

En la **Tabla 4** se observan las propiedades físicas de las dos variedades de garbanzo; primeramente, se destaca un alto porcentaje de germinación (>90%) en ambas variedades incluso en las muestras que se adicionó selenio. Destacando que la adición de dicho mineral no afecto el bioproceso. Además, los valores de longitud de los brotes mostraron ser muy favorables, aumentando con el tiempo de germinación en ambas variedades. El tamaño de brote en el día 5 fue significativamente ($p < 0.05$) mayor en los granos de garbanzo negro con selenio en comparación con los granos sin selenio.

Tabla 4. Propiedades físicas de garbanzo desi germinado y selenizado.

Propiedad	Variedad	Selenización	Tiempo de germinación (días)				
			1	2	3	4	5
% de Germinación	R.5383	Sin Se	83.8±2.3 ^{bA}	84.7±2.8 ^{bA}	92.3±5.4 ^{abA}	98.4±2.2 ^{aA}	96.7±2.2 ^{aA}
		Con Se	84.4±3.2 ^{bA}	85.2±3.2 ^{bA}	99.0± 2.0 ^{aA}	99.2±1.1 ^{aA}	96.8±2.4 ^{aA}
	N.3761	Sin Se	92.4±1.1 ^{bA}	90.7±0.6 ^{bA}	96.7±1.8 ^{aA}	98.1±0.8 ^{aA}	97.5±1.1 ^{aA}
		Con Se	91.8±1.9 ^{aA}	90.7±4.6 ^{aA}	98.0±1.2 ^{aA}	98.1±0.8 ^{aA}	97.5±1.1 ^{aA}
Longitud del brote (cm)	R.5383	Sin Se	Nd	1.2±0.2 ^c	2.6±0.3 ^b	3.6±1.0 ^a	4.4±1.7 ^a
		Con Se	Nd	1.1±0.3 ^c	2.4±0.4 ^b	3.1±0.6 ^a	3.3±0.7 ^a
	N.3761	Sin Se	Nd	1.3±0.3 ^{cA}	2.9±0.6 ^{bA}	4.5±0.7 ^{aA}	4.7±0.9 ^{aB}
		Con Se	Nd	1.4±0.3 ^{dA}	2.9±0.6 ^{cA}	4.3±0.9 ^{bA}	5.7±1.7 ^{aA}

Nd: no determinado. R.5383. Garbanzo rojo variedad 5883. N.3761. Garbanzo negro variedad 3761. Sin Se. 0 mg Selenito de Sodio/100g. Con Se. 2 mg Selenito de Sodio/ 100g. Los resultados se expresan como medias ± desviación estándar. Medias con letras diferentes en cada línea indican diferencia significativa ($p < 0.05$) por efecto de la germinación.

6.2. Cuantificación del contenido de Selenio en garbanzo pigmentado germinado y germinado-selenizado.

El **Tabla 5** muestra los valores de acumulación de selenio acorde al día 4 y 5 de germinación. Se puede observar que la acumulación del selenio fue mayor al 80%, donde observamos que la variedad R.5383 presento un mayor contenido ($p < 0.05$) de este elemento en comparación con la variedad N. 3761. Además, se observó una tendencia a acumular selenio en relación con el tiempo de germinación.

Tabla 5. Contenido de selenio en variedades de garbanzo germinado y selenizado.

Tiempo de germinación (días)	Variedad	Contenido de Selenio ($\mu\text{g Se/g bs.}$)		% selenio acumulado
		Sin Se	Con Se	
4	R.5383	<LOD	8.27 \pm 0.04 _a	89.47
	N.3761	<LOD	7.83 \pm 0.04 _b	84.76
5	R.5383	<LOD	9.07 \pm 0.04 _a	97.90
	N.3761	<LOD	8.68 \pm 0.04 _b	93.74

Sin Se. 0 mg Selenito de Sodio/ 100g. Con Se. 2 mg Selenito de Sodio/100g. LOD. Límite de detección (<0.5 $\mu\text{g Se/g}$). R.5383. Garbanzo rojo variedad 5383. N.3761. Garbanzo negro variedad 3761. bs. Base seca.

6.3. Efecto de la germinación de garbanzo pigmentado sobre el perfil de proteínas y contenido de proteína soluble.

En la **Figura 5** se presenta el perfil de proteína de las variedades de garbanzo germinado R. 5383 (A) y N.3761 (B) con o sin presencia de selenio, donde se puede observar que ambas muestras de garbanzo presentaron bandas de proteínas entre 10-75 kDa las cuales corresponden a globulina, albumina y glutelinas. También se observa una ligera hidrólisis enzimática que va en aumento con respecto a los días de germinación, ya que durante este proceso las proteínas de almacenamiento se descomponen y actúan como fuentes de aminoácidos, nitrógeno y carbono para la síntesis de biomoléculas.

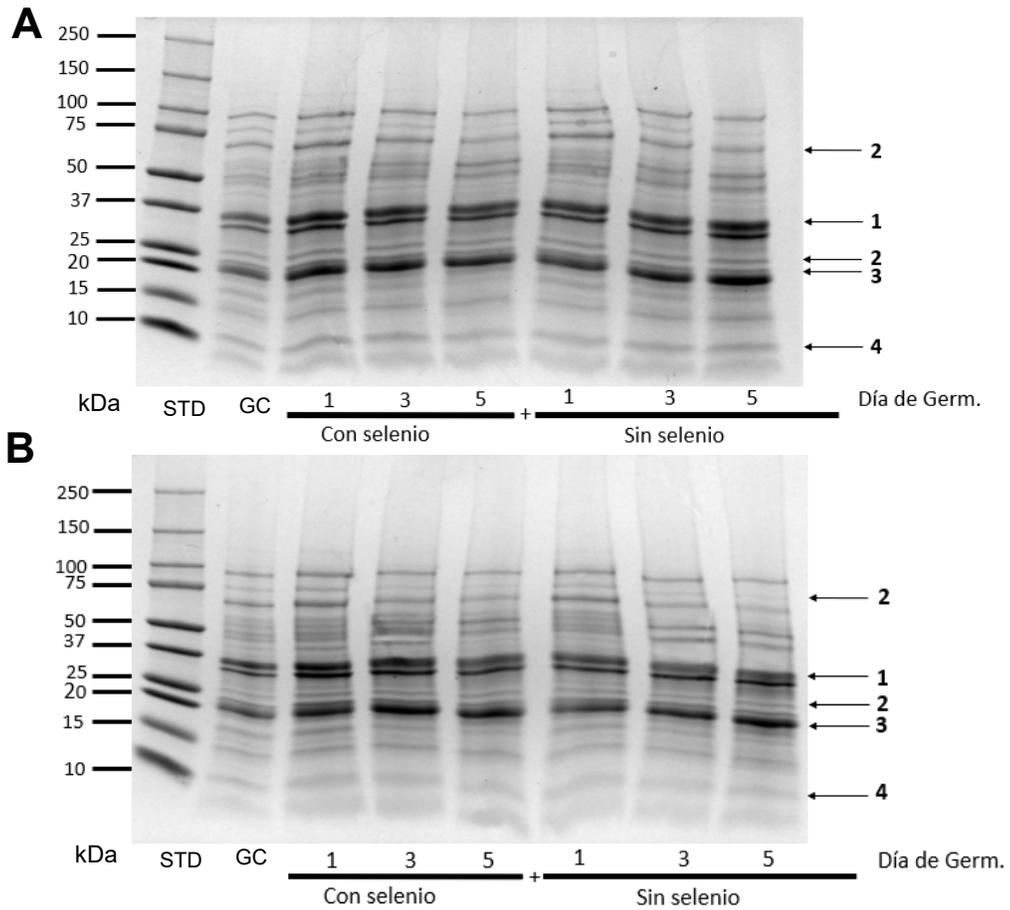


Figura 5. Perfil de proteínas (SDS-PAGE) en garbanzo desi germinado en las variedades 5383 (A) y 3761 (B). 1: Globulinas 11s; 2: Globulina 7s; 3: Albúmina; 4: Glutelina; STD: Estándar de peso molecular de proteínas Dual color; GC: garbanzo crudo.

En la **Tabla 6** se observa un incremento significativo de proteína soluble por efecto del tiempo de germinación, particularmente en la variedad N.3761. La variedad R. 5383 sin selenio aumento 11% de PS (contenido de proteína soluble) durante sus días de germinación a diferencia de las muestras con selenio que incrementaron solo 3%. Por otra parte, N.3761 presento un incremento del 39% de PS en las muestras sin adición de dicho elemento y un 45% más en el grano con selenio en relación con el tiempo de germinación.

Tabla 6. Contenido de proteína soluble en garbanzo desi germinado y selenizado.

Variedad	Selenio	Tiempo				
		de germinación (días) ^a				
		1	2	3	4	5
R.5383	Sin Se	121±09.7 ^A _{abc}	105±06.0 ^B _c	112±15.2 ^A _{bc}	129±12.0 ^B _{ab}	134±04.4 ^A _a
	Con Se	131±08.3 ^A _b	140±08.4 ^A _{ab}	127±13.2 ^A _b	151±11.0 ^A _a	135±00.0 ^A _{ab}
N.3761	Sin Se	176±07.6 ^A _d	246±15.2 ^A _b	206±11.5 ^A _c	290±05.7 ^A _a	245±05.7 ^B _b
	Con Se	185±07.6 ^A _c	195±15.2 ^B _c	205±02.8 ^A _c	240±10.4 ^B _b	268±05.0 ^A _a

^a mg PS/g bs. R.5383. Garbanzo rojo variedad 5383. N.3761. Garbanzo negro variedad 3761. 0 mg Selenito de Sodio/ 100g. Con Se. 2 mg Selenito de Sodio/100g. PS. contenido proteína soluble. Los resultados se expresan como medias ± la desviación estándar. Medias con letras mayúsculas diferentes en por columna de cada variedad indican diferencia significativa ($p < 0.05$) por efecto de la selenización. Medias con letras minúsculas diferentes en cada línea indican diferencia significativa ($p < 0.05$) por efecto de germinación. bs. base seca.

En el contenido de PS de garbanzo germinado se observó un efecto significativo de las variables estudiadas, variedad de garbanzo y el tiempo de germinación, mientras que el contenido de selenio suplementado durante el tiempo de germinación no tuvo un efecto significativo sobre este parámetro (**Tabla 7**).

Tabla7. Prueba de Efectos del modelo en muestras de garbanzo germinado selenizado.

Variables	PS	CFT	AAOX
Variedad de garbanzo	<.0001*	0.0062*	<.0001*
Contenido de Selenio	0.6822	0.3135	0.9100
Tiempo de germinación	<.0001*	<.0001*	<.0001*
Variedad * Contenido de selenio	<.0001*	0.0012*	0.0351*
Contenido de selenio * Tiempo de germinación	0.0013*	0.1052	0.0919
Variedad * Tiempo de germinación	<.0001*	0.6978	<.0001*
Variedad * Contenido de selenio * Tiempo de germinación	<.0001*	0.2316	0.0003*

PS: Contenido de Proteína soluble. CFT. Contenido de fenólicos totales. AAOX. Actividad antioxidante. $p < 0.05$

6.4 Efecto de la germinación de garbanzo pigmentado sobre el contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante.

En la **Tabla 8** se observa el contenido de fenólicos totales en garbanzo desi germinado, donde se observó un incremento con respecto al tiempo de germinación, reporto mayor cantidad de estos en la variedad N. 3761. CFT en la variedad R.5383 mostro un incremento de 31% en las muestras sin Se y un 27% con Se, respecto al tiempo de germinación. Por otra parte, en la variedad N. 3761, CFT incremento 17% en granos sin Se y 25% en muestras con Se, comparando el día 1 con el día 5.

Tabla 8. Contenido de Fenólicos totales en garbanzo desi germinado y selenizado.

Variedad	Selenización	Tiempo de germinación (días) ^a				
		1	2	3	4	5
R.5383	Sin Se	204±5.0 ^{B_c}	218±7.5 ^{B_c}	240±0.9 ^{B_b}	257±1.2 ^{B_{ab}}	269±5.1 ^{B_a}
	Con Se	225±1.8 ^{A_e}	245±0.9 ^{A_d}	251±3.8 ^{A_c}	279±0.6 ^{A_b}	286±1.1 ^{A_a}
N.3761	Sin Se	252±5.4 ^{A_c}	261±8.4 ^{A_{bc}}	271±7.2 ^{A_{bc}}	276±3.3 ^{A_{ab}}	295±0.6 ^{A_{ab}}
	Con Se	234±2.8 ^{A_c}	250±0.6 ^{A_b}	255±4.3 ^{A_b}	284±1.2 ^{A_a}	292±4.7 ^{A_a}

^a **µg EAG/100g** bs. R.5383. Garbanzo rojo variedad 5383 N.3761. Garbanzo negro variedad 3761. Sin Se. 0 mg Selenito de Sodio/ 100g. Con Se. 2 mg Selenito de Sodio/100g. µg EAG. microgramos equivalentes de ácido gálico/100 gramos. b.s. base seca. Los resultados se expresan como medias ± la desviación estándar. Medias con letras mayúsculas diferentes en por columna de cada variedad indican diferencia significativa (p<0.05). por efecto de la selenización. Medias con letras minúsculas diferentes en cada línea indican diferencia significativa(p<0.05) por efecto de germinación.

La actividad antioxidante de las muestras de garbanzo germinadas se muestra en la **Tabla 9**. El tiempo de germinación aumenta significativamente ($p < 0.05$) la actividad antioxidante en las muestras de garbanzo germinadas. En la variedad R.5383, al comparar las muestras del día 1 contra el día 5 se observa un aumento de 2.6 veces en la capacidad antioxidante en muestras sin Se y un incremento de 3 veces más actividad antioxidante en granos tratados con Se. Asimismo, la variedad N.3761 aumento 2 veces su capacidad antioxidante en las muestras sin Se y 2.5 veces en los granos tratados con Se. Sin embargo, la presencia de selenio no mostró efecto significativo ($p < 0.05$) sobre la capacidad antioxidante (**Tabla 9**).

Tabla 9. Actividad antioxidante AAOX en garbanzo desi germinado y selenizado.

Variedad	Selenización	Tiempo de germinación (días) ^a		
		1	3	5
R.5383	Sin Se	4267±206.5 ^{Bc}	8100±328.6 ^{Bc}	14233±1023.0 ^{Aa}
	Con Se	5600±126.4 ^{Ac}	8700±209.7 ^{Ab}	13300±1025.6 ^{Aa}
N.3761	Sin Se	5167±233.8 ^{Ac}	13733±484.4 ^{Ab}	16667±602.2 ^{Aa}
	Con Se	4700±352.1 ^{Bc}	13100±1017.8 ^{Ab}	16867±733.9 ^{Aa}

^a μ mol de ET/100g bs. R.5383. Garbanzo rojo variedad 5383 N.3761. Garbanzo negro variedad 3761. Sin Se. 0 mg Selenito de Sodio/ 100g. Con Se. 2 mg Selenito de Sodio/100g. AAOX. microgramos equivalentes de trolox/100 gramos. b.s. base seca. Los resultados se expresan como medias \pm la desviación estándar. Medias con letras mayúsculas diferentes en por columna de cada variedad indican diferencia significativa ($p < 0.05$). por efecto de la selenización. Medias con letras minúsculas diferentes en cada línea indican diferencia significativa ($p < 0.05$) por efecto de germinación.

6.5 Efecto del contenido de selenio y del tiempo de hidrolisis en garbanzo pigmentado sobre el perfil de proteínas, contenido de compuestos fenólicos, proteína soluble y actividad antioxidante.

En la **Figura 6** se muestra el perfil de proteínas de los hidrolizados de garbanzo germinado y garbanzo germinado-selenizado de las variedades R.5383 (A y C) y N.3761 (B y D). En dicha figura se observa las bandas de proteínas características presentes en las diferentes muestras de garbanzo germinado o germinado-selenizado sin digerir. En la misma figura se observa que al aumentar el tiempo de hidrolisis la concentración de ciertas bandas de proteínas se degrada. En la misma figura se observa que al tiempo de 240 min de digestión pepsina+pancretina las bandas con peso molecular menor a 10 kDa, lo cual se relaciona con la formación de péptidos.

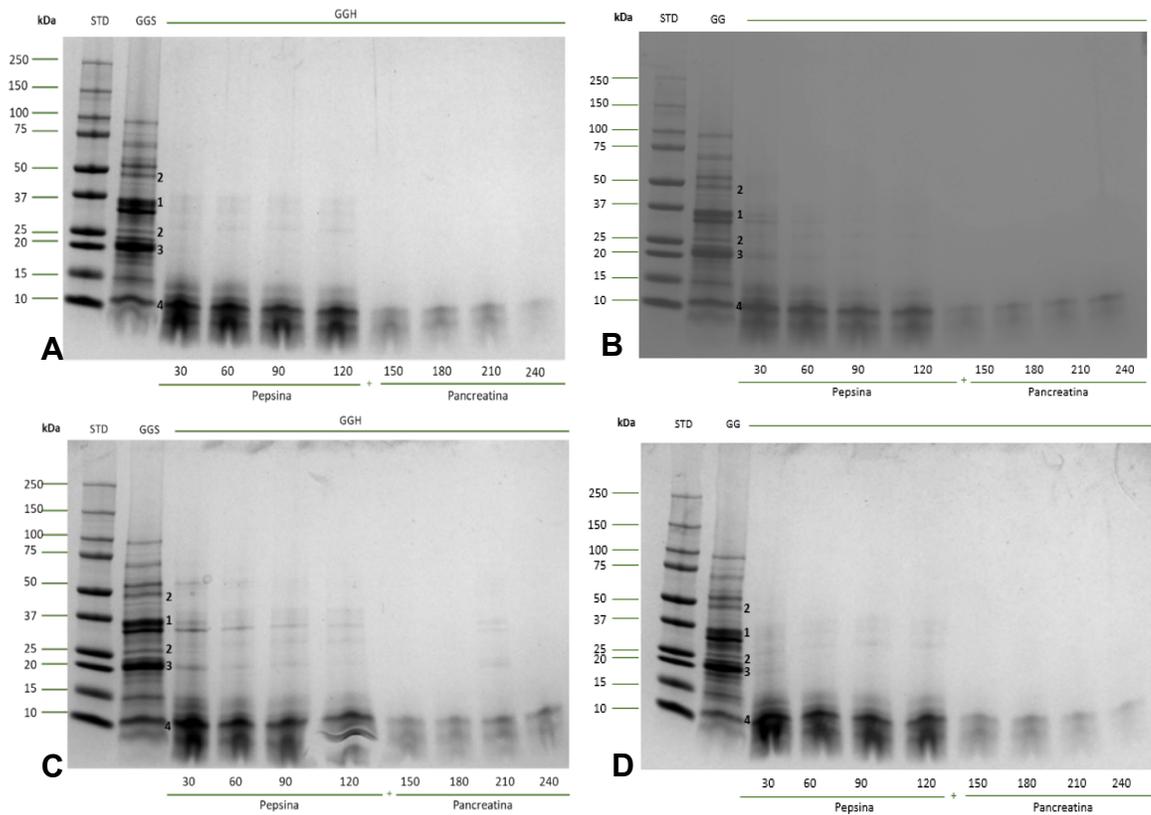


Figura 6. Perfil de proteínas (SDS-PAGE) en hidrolizados de garbanzo desi germinado selenizado. A: Garbanzo desi variedad 5383 con selenio; B: Garbanzo desi variedad 5383 sin selenio; C: Garbanzo desi variedad 3761 con selenio; D: Garbanzo desi variedad 3761 sin selenio; 1: Globulinas 11s; 2: Globulina 7s; 3: Albumina; 4: Glutelina; STD: Estándar de peso molecular de proteínas Dual color; GG: Garbanzo germinado; GGH: Garbanzo germinado hidrolizado.

En la **Tabla 10** se puede observar un incremento en el contenido de proteína soluble ($p < 0.05$) con relación al tiempo de hidrolisis. El hidrolisis completa incremento 5 veces PS en variedad R.5383 y de 2.5 veces en variedad N.3761, en presencia o ausencia de selenio.

Tabla 10. Contenido de Proteína Soluble en hidrolizados de garbanzo germinado y selenizado de dos variedades desi.

Enzima	Tiempo de digestión (min)	Variedad ^a			
		R.5383		N.3761	
		Sin Se	Con Se	Sin Se	Con Se
Pepsina	0	2.6±0.00 ^{A_f}	2.6±0.0 ^{A_e}	4.9±0.1 ^{B_f}	5.3±0.1 ^{A_e}
	30	9.7±0.3 ^{B_e}	11.2±0.5 ^{A_d}	9.4±0.2 ^{B_e}	10.1±0.1 ^{A_d}
	60	10.7±0.7 ^{A_{de}}	11.2±0.4 ^{A_d}	10.1±0.1 ^{A_{de}}	10.5±0.7 ^{A_{cd}}
	90	11.2±0.5 ^{A_{cd}}	11.8±0.1 ^{A_{cd}}	11.8±0.1 ^{A_{cd}}	10.6±0.3 ^{A_{cd}}
	120	11.6±0.4 ^{A_{bcd}}	12.0±0.5 ^{A_{cd}}	10.9±0.1 ^{A_{bcd}}	11.3±0.3 ^{A_{bcd}}
Pepsina +	150	11.9±0.4 ^{A_{abcd}}	12.4±0.8 ^{A_{abcd}}	11.2±0.6 ^{A_{bc}}	11.6±0.5 ^{A_{bc}}
Pancreatina	180	12.4±0.2 ^{A_{abc}}	13.3±0.8 ^{A_{abc}}	11.9±0.4 ^{A_{ab}}	12.5±0.3 ^{A_{ab}}
	210	12.7±0.3 ^{A_{ab}}	13.7±0.6 ^{A_{ab}}	11.9±0.4 ^{A_{ab}}	12.5±0.3 ^{A_{ab}}
	240	13.0±0.4 ^{B_a}	14.1±0.3 ^{A_a}	12.3±0.2 ^{A_a}	13.0±0.4 ^{A_a}

^a mg PS/mL. R.5383. Garbanzo rojo variedad 5383 N.3761. Garbanzo negro variedad 3761. Sin Se. 0 mg Selenito de Sodio/ 100g. Con Se. 2 mg Selenito de Sodio/100g. Los resultados se expresan como medias ± la desviación estándar. Medias con letras mayúsculas diferentes por la línea de cada variedad indican diferencia significativa (p<0.05) por efecto de la selenización. Medias con letras minúsculas diferentes por columna indican diferencia significativa(p<0.05) por efecto de la hidrólisis enzimática.

El contenido de compuesto fenólicos (**Tabla 11**) aumento al comparar la muestra sin digerir con las muestras hidrolizadas de todas las muestras. En el Tabla 13 se observa un aumento ($p < 0.05$) en la actividad antioxidante de muestras hidrolizadas de garbanzo germinado y selenizado desi, con relación al tiempo de germinación y contenido de selenio.

Tabla 11. Contenido de Fenólicos totales en hidrolizados de garbanzo germinado y selenizado de dos variedades desi.

Enzima	Tiempos de digestión (min)	Variedad ^a			
		R.5383		N.3761	
		Sin Se	Con Se	Sin Se	Con Se
Pepsina	0	0.28±0.0 ^B _e	0.29±0.0 ^A _b	0.31±0.0 ^A _d	0.31±0.0 ^A _e
	30	4.30±0.0 ^B _d	4.52±0.1 ^A _a	4.82±0.2 ^A _c	4.63±0.0 ^A _d
	60	4.57±0.1 ^A _{ab}	4.59±0.2 ^A _a	4.91±0.1 ^A _{bc}	4.77±0.0 ^A _{bcd}
	90	4.50±0.1 ^A _{abc}	4.72±0.3 ^A _a	5.14±0.1 ^A _{ab}	5.03±0.2 ^A _{ab}
	120	4.44±0.1 ^B _{abcd}	4.75±0.2 ^A _a	5.05±0.0 ^A _{abc}	4.85±0.2 ^A _{bcd}
Pepsina +	150	4.28±0.1 ^B _d	4.74±0.2 ^A _a	5.22±0.1 ^A _a	4.72±0.0 ^B _{cd}
Pancreatina	180	4.39±0.0 ^B _{bcd}	4.70±0.1 ^A _a	5.31±0.2 ^A _a	5.17±0.1 ^A _{ab}
	210	4.35±0.1 ^B _{cd}	4.61±0.1 ^A _a	5.02±0.1 ^A _{abc}	4.96±0.1 ^A _{abc}
	240	4.59±0.0 ^A _a	4.65±0.2 ^A _a	5.31±0.1 ^A _a	4.76±0.2 ^B _{bcd}

^a mg EAG/g. R.5383. Garbanzo rojo variedad 5383. N.3761. Garbanzo negro variedad 3761. Sin Se. 0 mg Selenito de Sodio/ 100g. Con Se. 2 mg Selenito de Sodio/100g. Los resultados se expresan como medias ± la desviación estándar. Medias con letras mayúsculas diferentes en por la línea de cada variedad indican diferencia significativa (p<0.05) por efecto de la selenización. Medias con letras minúsculas diferentes por columna indican diferencia significativa(p<0.05) por efecto de la hidrólisis enzimática.

El contenido de PS en el garbanzo germinado es único parámetro donde las variables del estudiadas (variedades, contenido de selenio y tiempo de hidrolisis) tienen un efecto significativo (**Tabla 12**). El contenido de fenólicos totales se influenciada por las variables: variedad de garbanzo y tiempo de hidrolisis. Mientras que la capacidad antioxidante no se ve influenciada por ninguna de las variables estudiadas.

Tabla 12. Actividad antioxidante en hidrolizados de garbanzo germinado y selenizado de dos variedades desi.

Enzima	Tiempos de digestión (min)	Variedad ^a			
		R.5383		N.3761	
		Sin Se	Con Se	Sin Se	Con Se
Pepsina	0	146±05.7 ^A _d	119±10.0 ^B _d	216±12.7 ^A _d	200±03.4 ^A _e
	30	357±35.1 ^A _b	254±13.3 ^B _c	258±09.1 ^B _c	350±08.5 ^A _d
	60	334±13.9 ^A _b	279±13.3 ^B _c	429±14.8 ^A _b	447±08.2 ^A _b
	90	297±15.3 ^A _c	324±07.2 ^B _b	471±14.2 ^A _a	417±08.1 ^B _c
	120	334±12.8 ^A _b	362±12.4 ^A _a	442±07.9 ^A _{ab}	421±13.1 ^A _{bc}
Pepsina + Pancreatina	150	381±02.1 ^A _{ab}	313±00.0 ^B _b	471±07.7 ^A _a	423±06.9 ^B _{bc}
	180	357±06.9 ^A _b	314±01.2 ^B _b	441±02.5 ^A _{ab}	420±01.0 ^A _{bc}
	210	423±01.7 ^A _a	364±06.3 ^B _a	440±00.0 ^A _{ab}	401±01.7 ^B _c
	240	383±06.6 ^A _{ab}	356±06.1 ^B _a	441±01.0 ^B _{ab}	519±06.6 ^A _a

^a $\mu\text{mol ET/mg PS}$. R.5383. Garbanzo rojo variedad 5383 N.3761. Garbanzo negro variedad 3761. Sin Se. 0 mg Selenito de Sodio/ 100g. Con Se. 2 mg Selenito de Sodio/100g. Los resultados se expresan como medias \pm la desviación estándar. Medias con letras mayúsculas diferentes en por línea de cada variedad indican diferencia significativa ($p < 0.05$) por efecto de la selenización. Medias con letras minúsculas diferentes por columna indican diferencia significativa ($p < 0.05$) por efecto de la hidrólisis enzimática.

Tabla 13. Prueba de Efectos del modelo en muestras de hidrolizados de garbanzo germinado selenizado.

Variables	PS	CFT	AAOX
Variedad de garbanzo	<.0001*	<.0001*	NS
Contenido de Selenio	<.0001*	0.9664	NS
Tiempo de hidrolisis	<.0001*	<.0001*	NS
Variedad*Contenido de Selenio	0.2875	<.0001*	NS
Contenido de Selenio*Tiempo de hidrolisis	0.3436	0.0114*	NS
Variedad*Tiempo de hidrolisis	<.0001*	<.0001*	NS
Variedad*Contenido de Selenio*Tiempo de hidrolisis	0.9057	<.0001*	NS

NS no significativo. PS: contenido de proteína soluble. CFT. Contenido de fenólicos totales. AAOX. Actividad antioxidante.

7. DISCUSIÓN

7.1 Efecto de germinación con selenito de sodio sobre compuestos bioactivos en las variedades de garbanzo desi negro y rojo.

El bioproceso de germinación en presencia de selenito de sodio tuvo un efecto positivo en el contenido de compuestos bioactivos con actividad antioxidante en los granos de garbanzo desi negro y rojo. Es remarcable que el proceso de germinación y el crecimiento del brote no fue afectado por la presencia de selenio. Esto se había observado previamente por Levine (1925) y Spender (1978) en donde mencionan que para poder afectar la germinación de diferentes muestras de granos fue necesario utilizar cantidades de selenio muy altas (46-253 mg Se).

Por otro lado, Lazo-Vélez et al., (2015) reportan que la tasa de asimilación del selenio y la conversión a su forma orgánica se ve asociado al tiempo y temperatura de germinación, así como la cantidad y tipo de selenio presente en la solución utilizada. El porcentaje de acumulación de selenio podría variar con respecto a las características físicas de las semillas de garbanzo, siendo la testa la que juega el papel más importante (Knights E.J. y Maller, 1989). A pesar de las diferencias en porcentaje de testa entre los granos kabuli (3-5%) y desi (9-15%) (Milán-Noris et al., 2016), las variedades desi estudiadas tuvieron porcentajes de acumulación de selenio muy parecidos a los previamente reportados para grano kabuli (Guardado-Félix et al., 2017).

Además, durante el proceso de germinación se observaron cambios en el contenido de proteína soluble en ambas variedades, sin embargo, fueron mayores en la variedad negra, mientras que la biosuplementación con selenio no tuvo un efecto significativo en PS. El incremento de PS por el proceso de germinación ha sido previamente observado en amaranto y garbanzo (kabuli y desi) (Milán-Noris, 2018; Sandoval-Sicairos et al., 2020). Dichos cambios pueden relacionarse con el aumento de endopeptidasas por el proceso de

germinación, las cuales degradan las proteínas en amino ácido para poder sintetizar nuevas proteínas (de Souza Rocha et al., 2014). En el SDS-page se puede observar la disminución de algunas bandas de proteína entre 80-75 kDa en las muestras de garbanzo germinado con o sin selenio al compararse con la muestra sin de garbanzo sin procesar. Lo cual coincide con lo previo reportado para garbanzo desi germinado (Milán-Noris, 2018).

El contenido de fenólicos totales en el garbanzo desi negro y rojo vario significativamente por efecto del tiempo de germinación, estos resultados concuerdan con lo previamente reportado por Milán-Noris, 2017; donde en variedades de garbanzo negro y rojo aumenta el CFT, pero no tan significativo como el garbanzo desi verde o kabuli Blanco Sinaloa (6 veces). Una explicación a este efecto es que al inicio de la germinación se activa la acción de la enzima PAL (Fenilalanina Amoniaco Liasa), la cual estimula el proceso de biosíntesis de compuestos fenólicos (Guardado-Félix et al., 2017), siendo esta etapa parte clave para el incremento de dichos compuestos. Por otra parte, en el garbanzo negro no se observó un efecto significativo por la adicción de selenio durante el proceso de germinación sobre CFT, mientras que en la variedad roja CFT si fue diferente todo el proceso de control. Otros investigadores han reportado un efecto positivo en CFT cuando se germinan las semillas en presencia de selenio (Guardado-Félix et al., 2017; Lazo-Vélez et al., 2015).

La capacidad antioxidante se ve influida por la concentración y estructura química de los compuestos en los granos (Guajardo-Flores et al., 2012) y su incremento se puede atribuir a la liberación o biosíntesis de compuestos fenólicos que pudieron generarse para el desarrollo de una nueva plántula por efecto de la germinación (Tarzi et al., 2012). El proceso de germinación del garbanzo desi rojo y negra varió positivamente, lo cual se puede deber por la liberación de compuestos fenólicos (isoflavonas) o péptidos durante dicho bioproceso, fenómeno que se ha observado en garbanzo y otros granos (Milán-Noris, 2018; Sandoval-Sicairos et al., 2020). Los péptidos

liberados por germinación presentan diferentes características antioxidantes (Gallegos Tintoré et al., 2013), la cual está determinada por su composición de aminoácidos. Además, se sabe que el mecanismo y eficiencia de los péptidos antioxidantes está determinado no solo por su tamaño, sino también por la composición de sus aminoácidos, estructura y carácter hidrofóbico (Sandoval-Sicairos et al., 2020). La dosis de selenito de sodio empleada durante la germinación no estimulo el incremento de compuestos fenólicos o actividad antioxidante en las variedades de garbanzo desi de este estudio.

7.2 Efecto de la simulación gastrointestinal sobre la liberación de compuestos antioxidantes en garbanzo germinado-selenizado

La simulación de digestión gastrointestinal (SDG) en las muestras de garbanzo germinado con o sin selenio causo la liberación de compuestos bioactivos con actividad antioxidante. En los experimentos realizados observamos como al paso del tiempo de hidrolisis se van degradando las proteínas hasta bandas de >10 kDa (Figura 6) que podría relacionarse con la formación de péptidos bioactivos. En las muestras podemos observar que a partir de los 30 min de digestión con pepsina las bandas que se encuentran entre 55-100 kDa prácticamente desaparecieron, mientras que las bandas de 15 a 37 kDa se presentan de manera tenue pero una vez pasados los 150 de digestión (30 min pancreatina) estas bandas se digirieron casi por completo dejando solo la acumulación de bandas de menos de 10 kDa. Resultados similares han sido reportados durante la digestión de garbanzo y amaranto (Milán-Noris, 2018; Sandoval-Sicairos et al., 2020). Por otra parte, durante la digestión con pepsina (30- 120 min) se observa mayor resistencia a hidrolisis en las bandas de 15 a 37 kDa en las muestras selenizadas (**Figura 6 A y C**) al compararse con las muestras sin selenio (**Figura 6 B y D**), se cree que el selenio tiene efectos inhibitorios sobre la proteólisis (Calvo et al., 2016; Serrano-Sandoval et al., 2019; Wang et al., 2018).

El tiempo de hidrolisis de la SGI incremento significativamente PS en la muestra de garbanzo. Al comparar el hidrolizado al tiempo 240 min la PS incremento 400% en la variedad R.5383 y 150% en la variedad N.3761, en presencia o ausencia de selenio al compararla con la muestra sin digerir. Resultados similares han sido reportados en hidrolizados de amaranto extrudido y germinado (Montoya-Rodríguez et al., 2015; Sandoval-Sicairos et al., 2020). El incremento de PS se puede deber a la degradación de las proteínas a péptidos bioactivos como se puede observar en la Figura 6. Las variables estudiadas, variedad de garbanzo, contenido de selenio y tiempo de hidrolisis, presentaron un efecto significativo sobre el contenido de PS las muestras.

El CFT en las muestras de garbanzo incremento significativamente en los hidrolizados por la SGI. El contenido de fenólicos totales se vio influenciada por las variables: variedad de garbanzo y tiempo de hidrolisis. Al comparar los diferentes hidrolizados (30 a 240 min) con sus correspondientes muestras sin digerir el CFT incrementa de 15 a 16 veces en Rojo y 15 a 18 veces V negra. Sin efecto significativo por el contenido de selenio en las muestras. Resultados similares se han encontrado en hidrolizados de amaranto germinado (14-15 veces) al compararse con muestra sin digerir (Sandoval-Sicairos et al., 2020). Las leguminosas son ricas en almidón, proteína y fibra y muchos de sus compuestos fenólicos se encuentran ligados o conjugados en complejos con estos macronutrientes, por lo que el procesamiento como la germinación posterior hidrolisis enzimática facilitan la liberación de los compuestos fenólicos en su forma libre (Acosta-Estrada, 2014; Rocchetti et al., 2022; Zhu, 2015). Además, el CFT en la variedad negra fue significativa mente mayor al compararse con todas las muestras de la variedad roja.

La capacidad antioxidante (CAox) de los hidrolizados de garbanzo desia aumento significativamente de acuerdo con el tiempo de hidrolisis. Al compara los hidrolizados con su correspondiente contraparte sin hidrolizar, la capacidad antioxidante aumento de 2.1 a 2.6 veces. Sin embargo, la CAox no fue

influenciada estadísticamente por ninguno de los parámetros estudiados en este trabajo. Varios investigadores han reportado el potencial antioxidante de los hidrolizados de garbanzo sin procesar (Yust et al., 2012; Zhang et al., 2012; Wang et al., 2016) o garbanzo tratado térmicamente. Otros investigadores han observado una mejor actividad antioxidante en hidrolizados de garbanzo kabuli selenizado (Serrano-Sandoval et al., 2019). Sin embargo, el proceso de germinación seguido por la SGI libero compuestos fenólicos (isoflavonas) o péptidos de garbanzo desi que contribuyeron la potencial capacidad antioxidante de las muestras, fenómeno que se ha observado en garbanzo dese (Milán-Noris, 2018). Nuestros resultados muestran que la combinación de la germinación con SGI generan ingredientes funcionales con potencial para el tratamiento de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo.

8.CONCLUSIONES

Al evaluar la germinación, selenización y digestión gastrointestinal *in vitro* sobre el contenido de compuestos bioactivos en garbanzo negro y rojo se observó que la dosis de selenito de sodio empleada durante la germinación no estimuló el incremento de compuestos fenólicos o actividad antioxidante. Sin embargo, el proceso de germinación seguido por la SGI liberó compuestos bioactivos, como fenólicos o péptidos, de garbanzo desi que contribuyeron a la potencial capacidad antioxidante de las muestras. Nuestros resultados muestran que la combinación de la germinación con SGI generan ingredientes funcionales con potencial para el tratamiento de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo. De acuerdo con los resultados la variedad de garbanzo desi negro resulta un interesante material para seguir evaluando y utilizarlo como material para el desarrollo de alimentos funcionales.

9. RECOMENDACIONES

Es indispensable continuar con futuros estudios en donde se evalúe el impacto de estas técnicas en garbanzo desi, ya que sus resultados podrían oscilar dependiendo las condiciones específicas de la muestra y su procesamiento, sin dejar a un lado que su biodisponibilidad y absorción de dichos compuestos nutrimentales podrían variar debido a diversos factores como dieta general y condiciones de salud de quien los consume.

Dichos procesamientos en cultivos requieren una investigación continua con el fin de garantizar la eficacia de estos al igual que su seguridad alimentaria.

10. REFERENCIAS

- Acosta-Estrada, B. A. (2014). Bound phenolics in foods, a review. *Food Chemistry*.
- Alcantar González, G., & Trejo-Tellez, L. I. (2009). *Nutrición de cultivos* (p. 454). Colegio de Posgraduados y Mundi-Prensa.
- Alloway, B. J. (2013). Bioavailability of Elements in Soil. *Springer Science+Business*. https://doi.org/10.1007/978-94-007-4375-5_15
- Apoysos y Servicios a la Comercialización Agropecuaria. (1997). [ASERCA]. *Revista "Claridades Agropecuarias"*. <https://plants.usda.gov/home/plantProfile?symbol=CIAR5>
- Arcott, S., & Goldman, I. (2012). Biomass Effects and Selenium Accumulation in Sprouts of Three Vegetable Species Grown in Selenium-enriched Conditions. *Hortscience*, 47(4), 497–502.
- Avalos-Castro, R., Ramírez-Orduña, R., Gutiérrez-Pérez, E., Melgoza-Villagómez, C. M., & Acosta-Gallegos, J. A. (2023). Rendimiento forrajero, grano y calidad del garbanzo (*Cicer arietinum* L.) tipo Desi. *Biotecnia*, 25(1), 184–192. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v25i1.1814>
- Baenas, N., Garc, C., & Moreno, D. A. (2014). Biotic Elicitors Effectively Increase the Glucosinolates Content in Brassicaceae Sprouts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1021/jf404876z>
- Bains, K., Uppal, V., & Kaur, H. (2011). Optimization of germination time and heat treatments for enhanced availability of minerals from leguminous sprouts. *J Food Sci Technol*. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0582-y>
- Bradford, K. J. (1990). *A Water Relations Analysis of Seed Germination Rates*. 94.
- Bradford, K. J., & Nonogaki, H. (2007). *Seed development, dormancy and germination*. Blackwell publ.
- Caicedo-López, L. H., Aranda, A. L. V., Sáenz De La O, D., Gómez, C. E. Z., Márquez, E. E., & Zepeda, H. R. (2021). Elicidores: Implicaciones bioéticas para la agricultura y la salud humana. *Revista Bioética*, 29(1), 76–86. <https://doi.org/10.1590/1983-80422021291448>

- Calvo, L., Toldrá, F., Aristoy, M. C., López-Bote, C. J., & Rey, A. I. (2016). Effect of dietary organic selenium on muscle proteolytic activity and water-holding capacity in pork. *Meat Science*. *Meat Science*, *121*, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.05.006>
- Cañari-Chumpitaz, C. L. (2011). *El selenio, un elemento poco conocido con un rol biológico importante*. *25*(1–2), 29–33.
- Chalamaiah, M., Yu, W., & Wu, J. (2017). Immunomodulatory and anticancer protein hydrolysates (peptides) from food proteins: A review. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.087>
- Chavan, J. K., Kadam, S. S., & Beuchat, L. R. (1989). Nutritional improvement of cereals by sprouting. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *28*(5), 401–437. <https://doi.org/10.1080/10408398909527508>
- Chen, L., Tai, W. C. S., & Hsiao, W. L. W. (2015). Dietary saponins from four popular herbal tea exert prebiotic-like effects on gut microbiota in C57BL/6 mice. *Journal of Functional Foods*, *17*, 892–902. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.050>
- De Souza Rocha, T., Real Hernandez, L. M., Kil Chang, Y., y González de Mejía, E. (2014). Impact of germination and enzymatic hydrolysis of cowpea bean (*Vigna unguiculata*) on the generation of peptides capable to inhibit dipeptidyl peptidase IV. *Food Research International*. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.08.016>
- Du, S-k., Jiang, H., Yu, X., & Jane J-l. (2014). Physicochemical and functional properties of whole legume flour. *LWT – Food Science and Technology*. *55*(1):308-313.
- Duffus, C. M., & Colin Slaughter, J. (1980). *Seed and their uses*. John Wiley and sons.
- Dwivedi, S., Shahrawat, K., Puppala, N., y Ortiz, R. (2014). Plant prebiotics and human health: Biotechnology to breed prebiotic-rich nutritious food crops. *Electronic Journal of Biotechnology*. <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2014.07.004> 0717-3458
- FAO/WHO. (1991). Protein quality evaluation, Food and agricultural organization of the United Nations.
- FAO/WHO. (2007). Protein and amino acid requirements in human nutrition

- FAOSTAT. (2021) Chickpea world production. <http://www.fao.org/faostat/>
- Fernando, W., Hill, J., Zello, G., Tyler, R., Dahl, W., y Van Kessel, A. (2010). Diets supplemented with chickpea or its main oligosaccharide component raffinose modify faecal microbial composition in healthy adults. *Beneficial Microbes*, 1(2), 197–207. <https://doi.org/10.3920/BM2009.0027>
- Fordyce, F. M. (2013). Selenium Deficiency and Toxicity in the Environment. *Essentials of Medical Geology: Revised Edition*, 375–413. https://doi.org/10.1007/978-94-007-4375-5_16
- Fратиани, F., Cardinale, F., Cozzolino, A., Granese, T., Albanese, D., Di Matteo, M., & Nazzaro, F. (2014). Polyphenol composition and antioxidant activity of different grass pea (*Lathyrus sativus*), lentils (*Lens culinaris*), and chickpea (*Cicer arietinum*) ecotypes of the Campania region (Southern Italy). *Journal of functional foods*, 7, 551-557.
- Fruton, J. S. (2002). The First Years of the Journal of Biological Chemistry. *Journal of Biological Chemistry*, 277(23), 20113–20116. <https://doi.org/10.1074/jbc.R200004200>
- Funes-Collado, V., Morell-Garcia, A., Rubio, R., & Lopez-Sanchez, J. F. (2013). Study of selenocompounds from selenium-enriched culture of edible sprouts. *Food Chemistry*, 141(2013), 3738–3743. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.06.090>
- Gallegos Tintoré, S., Chel Guerrero, L., Corzo Ríos, L. J., & Martínez Ayala, A. L. (2013). *Péptidos con actividad antioxidante de proteínas vegetales*. M. Segura Campos, L. Chel Guerrero & D. Betancur Ancona.
- Gan, R.-Y., Lui, W.-Y., Wu, K., Chan, C.-L., Dai, S.-H., Sui, Z.-Q., & Corke, H. (2016). *Bioactive Compounds and Bioactivities of Germinated Edible Seeds and Sprouts: An Updated Review*. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.11.010>
- Garzón-Tiznado, J. A., Ochoa-Lugo, M. I., Heiras-Palazuelos, M. de J., Domínguez-Arispuro, D. M., Cuevas-Rodríguez, E. O., Gutiérrez-Dorado, R., Milán-Carrillo, J., & Reyes-Moreno, C. (2012). *Acceptability Properties and Antioxidant Potential of Desi Chickpea (Cicer arietinum L.) Cultivars*.
- Gergely, V., Montes-Bayo, M., Fodor, P., & Sanz-Medel, A. (2006). Selenium Species in Aqueous Extracts of Alfalfa Sprouts by Two-Dimensional Liquid Chromatography Coupled to Inductively Coupled Plasma Mass

Spectrometry and Electrospray Mass Spectrometry Detection. *Agricultural and Food Chemistry*, 54, 4524–4530. <https://doi.org/10.1021/jf060320n>

- Girón-Calle, J., Alaiz, M., & Vioque, J. (2010). Effect of chickpea protein hydrolysates on cell proliferation and in vitro bioavailability. *Food Research International*, 43(5), 1365–1370. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.03.020>
- Guajardo-Flores, D., García-Patiño, M., Serna-Guerrero, D., Gutiérrez-Urbe, J. A., & Serna-Saldívar, S. O. (2012). Characterization and quantification of saponins and flavonoids in sprouts, seed coats and cotyledons of germinated black beans. *Food Chemistry*, 134, 1312–1319. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.03.020>
- Guardado-Felix, D., Lazo-Velez, M. A., & Serna-Saldivar, S. O. (2019). *Chapter 24—Protein-Selenized Enriched Breads*. 307–317. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814639-2.00024-1>
- Guardado-Félix, D., Serna-Saldivar, S. O., Cuevas-Rodríguez, E. O., Jacobo-Velázquez, D. A., & Gutiérrez-Urbe, J. A. (2017). Effect of sodium selenite on isoflavonoid contents and antioxidant capacity of chickpea (*Cicer arietinum* L.) sprouts. *Food Chemistry*, 226, 6974. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.046>
- Güçlü-Üstündağ, Ö., & Mazza, G. (2007). Saponins: properties, applications and processing. *Critical reviews in food science and nutrition*, 47(3), 231-258.
- Guo, Y., Zhang, T., Jiang, B., Miao, M., & Mu, W. (2014). The effects of an antioxidative pentapeptide derived from chickpea protein hydrolysates on oxidative stress in Caco-2 and HT-29 cell lines. *Journal of functional foods*, 7, 719–726. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.12.013>
- Gupta, M., & Gupta, S. (2017). An Overview of Selenium Uptake, Metabolism, and Toxicity in Plants. *Frontiers in Plant Science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.02074>
- HaiRong, M., HuaBo, W., Zhen, C., Yi, Y., ZhengHua, W., Madina, H., & Haji Akber, A. (2013). The estrogenic activity of isoflavones extracted from chickpea *Cicer arietinum* L sprouts in vitro. *Phytotherapy Research*, 27(8), 1237-1242.

- Halder, M., Sarkar, S., & Jha, S. (2019). Elicitation: A biotechnological tool for enhanced production of secondary metabolites in hairy root cultures. *Engineering in Life Sciences*.
- Hämäläinen, M., Nieminen, R., Vuorela, P., Heinonen, M., & Moilanen, E. (2007). Antiinflammatory effects of flavonoids: genistein, kaempferol, quercetin, and daidzein inhibit STAT-1 and NF-kappaB activations, whereas flavone, isorhamnetin, naringenin, and pelargonidin inhibit only NF-kappaB activation along with their inhibitory effect on iNOS expression and NO production in activated macrophages. *Mediators of inflammation*, 2007, 1-10. <https://doi.org/10.1155/2007/45673>
- Harris, P. J., & Ferguson, L. R. (1993). Dietary fibre: its composition and role in protection against colorectal cancer. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 290(1), 97-110.
- Hatfield, D. L., Schweizer, U., Tsuji, P. A., & Gladyshev, V. N. (2016). *Selenium: Its molecular biology and role in human health* (4th ed). Springer.
- Haug, A., Graham, R. D., Christophersen, O. A., & Lyons, G. H. (2007). How to use the world's scarce selenium resources efficiently to increase the selenium concentration in food. *Informa Health Care*, 19, 209–228. <https://doi.org/10.1080/08910600701698986>
- Heinonen, M. (2007). Antioxidant activity and antimicrobial effect of berry phenolics—a Finnish perspective. *Molecular Nutrition & Food Research*, 51(6), 684-691.
- Heiras-Palazuelos M.J., Ochoa-Lugo M.I., Gutiérrez-Dorado R, López-Valenzuela J.A., Mora-Rochín S., Milán-Carrillo J., Garzón-Tiznado J.A., & 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 science and nutrition*, 64(1):69-76.
- 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 and Food Chemistry*, 62(46), 11170-11179.
- Hosseinpour-Niazi, S., Mirmiran, P., Hedayat, M., & Azizi, F. (2014). Substitution of red meat with legumes in the therapeutic lifestyle change

diet based on dietary advice improves cardiometabolic risk factors in overweight type 2 diabetes patients: A cross-over randomized clinical trial. *European Journal of Clinical Nutrition*, 1–6.

<https://doi.org/10.1016/j.jada.2008.03.009>

- Hu, Y., Xiong, L., Huang, W., Cai, H., Luo, Y., Zhang, Y., & Lu, B. (2014). Antiinflammatory effect and prostate gene expression profiling of steryl ferulate on experimental rats with non-bacterial prostatitis. *Food & Function*, 5(6), 1150-1159.
- Johnson, S. K., Thomas, S. J., & Hall, R. S. (2005). Palatability and glucose, insulin and satiety responses of chickpea flour and extruded chickpea flour bread eaten as part of a breakfast. *European Journal of Clinical Nutrition*, 59(2), 169–176. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602054>
- Jones, G. D., Droz, B., Greve, P., Gottschalk, P., Poffet, D., McGrath, S. P., Seneviratne, S. I., Smith, P., & Winkel, L. H. E. (2017). *Selenium deficiency risk predicted to increase under future climate change*. 114, 2848–2853. <https://doi.org/10.1073/pnas.1611576114>
- Jukanti, A. K., Gaur, P. M., Gowda, C. L. L., & Chibbar, R. N. (2012). Nutritional quality and health benefits of chickpea (*Cicer arietinum* L.): A review. *British Journal of Nutrition*, 108, S11–S26. <https://doi.org/10.1017/S0007114512000797>
- Karas, B. J., Suzuki, Y., & Weyman, P. D. (2015). Strategies for cloning and manipulating natural and synthetic chromosomes. *Springer*. <https://doi.org/10.1007/s10577-014-9455-3>
- Kaur, N., Sharma, S., Kaur, S., & Nayyar, H. (2014). Selenium in agriculture: A nutrient or contaminant for crops? *Taylor & Francys*, 60(12), 1593–1624. <https://doi.org/10.1080/03650340.2014.918258>
- Kermode, A. R. (1990). *Regulatory mechanisms involved in the transition from seed development to germination*. 9(2).
- Kieliszek, M., Błażej, S., Gientka, I., & Bzducha-Wróbel, A. (2015). Accumulation and metabolism of selenium by yeast cells. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(13), 5373–5382. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6650-x>

- Kim, S. P., Kang, M. Y., Nam, S. H., & Friedman, M. (2012). Dietary rice bran component γ -oryzanol inhibits tumor growth in tumor-bearing mice. *Molecular Nutrition & Food Research*, 56(6), 935-944.
- Konar, N., Poyrazoğlu, E. S., Demir, K., & Artik, N. (2012). Determination of conjugated and free isoflavones in some legumes by LC–MS/MS. *Journal of Food Composition and Analysis*, 25(2), 173-178.
- Kou, X. (2013). Purification and identification of antioxidant peptides from chickpea (*Cicer arietinum* L.) albumin hydrolysates. *Food Science and Technology*, 50, 591–598. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.08.002>
- 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. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-05-14-0110-RW>
- Legaria Solano, J., Ponce Romero, G., & Muñoz Orozco, A. (2000). *Efecto del estrés osmótico sobre la germinación de las semillas y el crecimiento de plántulas de trigo (Triticum aestivum L.) y amaranto (Amaranthus hypochondriacus L.)*. 153(166), 153–165.
- Li, H.-F., McGrath, S. P., & Zhao, F.-J. (2008). Selenium uptake, translocation and speciation in wheat supplied with selenate or selenite. *New Phytologist*, 178, 92–102. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02343.x>
- Lopez-Martinez, L. X., Leyva-Lopez, N., Gutierrez-Grijalva, E. P., & Basilio Heredia, J. (2017). *Effect of cooking and germination on bioactive compounds in pulses and their health benefits*.
- Maccaferri, S., Klinder, A., Cacciatore, S., Chitarrari, R., Honda, H., Luchinat, C., Bertini, I., Carnevali, P., Gibson, G. R., Brigidi, P., & Costabile, A. (2012). In vitro fermentation of potential prebiotic flours from natural sources: Impact on the human colonic microbiota and metabolome. *Mol. Nutr. Food Res.*, 0, 1–11. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201200046>
- Meredith, P., Dengate, H. N., & Morrison, W. R. (1978). *The Lipids of Various Sizes of Wheat Starch Granules*.

- Milán-Noris, A. K. (2018). Peptides and isoflavones in gastrointestinal digests contribute to the anti-inflammatory potential of cooked or germinated desi and kabuli chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Food Chemistry*.
- Milan-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 and Technology*, 1–12. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14144>
- Milán-Noris, A. K., de la Rosa-Millan, J., Reyes-Moreno, C., & Serna-Saldivar, S. O. (2016). *Physicochemical, functional properties, and digestion of isolated starches from pigmented chickpea (Cicer arietinum L.) cultivars*. 68, 1–11. <https://doi.org/10.1002/star.201600152>
- Mocchegiani, E., Costarelli, L., Giacconi, R., Malavolta, M., Basso, A., Piacenza, F., Ostan, R., Cevenini, E., Gonos, E. S., & Monti, D. (2014). Micronutrient–gene interactions related to inflammatory/immune response and antioxidant activity in ageing and inflammation. A systematic review. *Mechanisms of Ageing*, 21. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2013.12.007>
- Montoya-Rodríguez, A., Gómez-Favela, M. A., Reyes-Moreno, C., Milán-Carrillo, J., & González De Mejía, E. (2015). Identification of Bioactive Peptide Sequences from Amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) Seed Proteins and Their Potential Role in the Prevention of Chronic Diseases. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(2), 139–158. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12125>
- Moure, A., Dominguez, H., & Parajo, J. C. (2006). Antioxidant properties of ultrafiltration-recovered soy protein fractions from industrial effluents and their hydrolysates. *Process Biochemistry*, 41, 447–456. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.07.014>
- Nestel, P., Cehun, M., & Chronopoulos, A. (2004). Effects of long-term consumption and single meals of chickpeas on plasma glucose, insulin, and triacylglycerol concentrations1–3. *American Society for Clinical Nutrition*, 79(390), 5.
- NIH (National Institute of Health). (2018). Selenium. <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Selenium-HealthProfessional/> (accessed 10. 07.21).

- Nyström, L., Schär, A., & Lampi, A. M. (2012). Steryl glycosides and acylated steryl glycosides in plant foods reflect unique sterol patterns. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 114(6), 656-669.
- Paikaray, S. (2016). Origin, Mobilization and Distribution of Selenium in a Soil/Water/Air System: A Global Perspective with Special Reference to the Indian Scenario. *Wiley*, 44(5), 474–487. <https://doi.org/10.1002/clen.201300454>
- Pajak, P., Socha, R., Galkowska, D., Roznowski, J., & Fortuna, T. (2014). Phenolic profile and antioxidant activity in selected seeds and sprouts. *Food Chemistry*.
- Paniagua-Pérez, R., Madrigal-Bujaidar, E., Reyes-Cadena, S., Alvarez-Gonzalez, I., Sánchez-Chapul, L., Pérez-Gallaga, J., & Velasco, O. (2008). Cell protection induced by betasitosterol: inhibition of genotoxic damage, stimulation of lymphocyte production, and determination of its antioxidant capacity. *Archives of Toxicology*, 82(9), 615.
- Papp, L. V., Lu, J., Holmgren, A., & Khanna, K. K. (2007). From Selenium to Selenoproteins: Synthesis, Identity, and Their Role in Human Health. *Antioxidants & redox signaling*, 9(7), 775–806. <https://doi.org/10.1089/ars.2007.1528>
- Park, E. H., Kahng, J. H., Lee, S. H., & Shin, K. H. (2001). An anti-inflammatory principle from cactus. *Fitoterapia*, 72(3), 288-290.
- Perez-Balibrea, S., Moreno, D. A., & Garc, C. (2011). Improving the phytochemical composition of broccoli sprouts by elicitation. *Food Chemistry*, 129, 35–44. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.049>
- Perrone, D., Monteiro, M., & Cortes Nunes, J. (2015). Selenium: Chemistry, Analysis, Function and Effects. En *Food and Nutritional Components in Focus* (Vol. 9). Royal Society of Chemistry.
- Pilon-Smits, E. A. H., Winkel, L. H. E., & Lin, Z.-Q. (2017). *Selenium in plants: Molecular, physiological, ecological and evolutionary aspects*. Springer.
- Piñeros-Castro, Y., Otálvaro-Álvarez, Á., & Velásquez-Lozano, M. (2009). Efecto de la aplicación de elicitores sobre la producción de 4b-hidroxiwithanólido E, en raíces transformadas de *Physalis peruviana* L. *Universitas Scientiarum*, 14.

- Pittaway, J. K., Robertson, I. K., & Ball, M. J. (2008). Chickpeas May Influence Fatty Acid and Fiber Intake in an Ad Libitum Diet, Leading to Small Improvements in Serum Lipid Profile and Glycemic Control. *Journal of the American Dietetic Association*, 108, 1009–1013.
- Prathapan, A., Fahad, K., Thomas, B. K., Philip, R. M., & Raghu, K. G. (2011). Effect of sprouting on antioxidant and inhibitory potential of two varieties of Bengal gram (*Cicer arietinum* L.) against key enzymes linked to type-2 diabetes. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 62(3), 234–238. <https://doi.org/10.3109/09637486.2010.529801>
- Quintero Soto, M. L., Camacho Ruiz, E. J., & Terán Varela, O. E. (2018). *La sociología de la salud y los paradigmas de investigación*. (1era ed.).
- Raza, H., Zaaboul, F., Shoaib, M., & Zhang, L. (2019). *An Overview of Physicochemical Composition and Methods used for Chickpeas Processing*. 7(5).
- 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 and Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1021/jf500932z>
- Rocchetti, G., Gregorio, R. P., Lorenzo, J. M., Barba, F. J., Oliveira, P. G., Prieto, M. A., Simal-Gandara, J., Mosele, J. I., Motilva, M., Tomas, M., Patrone, V., Capanoglu, E., & Lucini, L. (2022). Functional implications of bound phenolic compounds and phenolics–food interaction: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 21(2), 811–842. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12921>
- SAGARPA (2020). Producción de garbanzo en México. *SIAP*. http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/AvanceNacionalCultivo.do
- Sagratini, G., Caprioli, G., Maggi, F., Font, G., Giardina, D., Manes, J., & Vittori, S. (2013). Determination of soyasaponins I and β g in raw and cooked legumes by solid phase extraction (SPE) coupled to liquid chromatography (LC)–mass spectrometry (MS) and assessment of their bioaccessibility by an *in vitro* digestion model. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(8), 1702-1709.
- Saldeen, K., & Saldeen, T. (2005). Importance of tocopherols beyond α -tocopherol: Evidence from animal and human studies. *Nutrition Research*, 25, 877–889. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2005.09.019>

- Sanchez Chino, X. M., Corzo Rios, L. J., Martinez Herrera, J., Cardador Martinez, A., & Jimenez Martinez, C. (2019). Effect of thermal treatment on the extraction efficiency, physicochemical quality of *Jatropha curcas* oil, and biological quality of its proteins. *Association of Food Scientists & Technologist*. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03666-0>
- Sánchez-Torres, E., Barrera-Silva, M., Cervantes-Ramírez, M., Morales-Trejo, A., Landero-Viera, J. L., Araiza-Piña, B., & Yáñez-Hernández, J. (2011). Digestibility of protein, amino acids, phosphorus, calcium and energy in sorghum-soybean meal diets added with phytase in pigs. *Agrociencia*, 45(3), 315–324.
- Sandoval-Sicairos, E. S., Domínguez-Rodríguez, M., Montoya-Rodríguez, A., Milán-Noris, A. K., Reyes-Moreno, C., & Milán-Carrillo, J. (2020). Phytochemical Compounds and Antioxidant Activity Modified by Germination and Hydrolysis in Mexican Amaranth. *Plant Foods for Human Nutrition*. <https://doi.org/doi.org/10.1007/s11130-020-00798-z>
- Segev, A., Badani, H., Kapulnik, Y., Shomer, I., Oren-Shamir, M., & Galili, S. (2010). Determination of Polyphenols, Flavonoids, and Antioxidant Capacity in Colored Chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Journal of food science*, 75(2). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01477.x>
- Segura Campos, M. R. (2015). Capacidad antioxidante de extractos foliares de dos variedades de *Nutrición hospitalaria*, 3, 1163–1170. <https://doi.org/10.3305/nh.2015.31.3.8043>
- Serrano-Sandoval, S. N., Guardado-Félix, D., & Gutiérrez-Urbe, J. A. (2019). Germinated in presence of selenium and antioxidant capacity of hydrolysates. *Food Chemistry*.
- Silva-Cristobal, L., Osorio-Diaz, P., Tovar, J., & Bello-Pérez, L. A. (2010). Chemical composition, carbohydrate digestibility, and antioxidant capacity of cooked black bean, chickpea, and lentil Mexican varieties. *CyTA - Journal of Food*, 8(1), 7–14.
- Singh U, Jambunathan R: 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* 1981, 46(5):1364-1367.
- Sreerama, Y. N., Sashikala, V. B., & Pratape, V. M. (2010). Variability in the distribution of phenolic compounds in milled fractions of chickpea and

- horse gram: evaluation of their antioxidant properties. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(14), 8322-8330.
- TAKAIWA, F., OGAWA, M., & OKITA, T. W. (1999). Rice Glutelins. In *Seed Proteins* (pp. 401–425). P.R. Shewry and R. Casey.
- Tarzi, B. G., Gharachorloo, M., Baharinia, M., & Mortazavi, S. A. (2012). The Effect of Germination on Phenolic Content and Antioxidant Activity of Chickpea. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 11(4), 1137–1143.
- Threapleton, D. E., Greenwood, D. C., Evans, C. E., Cleghorn, C. L., Nykjaer, C., Woodhead, C., & Burley, V. J. (2013). Dietary fiber intake and risk of cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis. *British Medical Journal*, 348, 1-12.
- Tiznado, J. A. G., Moreno, E., Campos, M. C., Vargas, F. D., Gutiérrez, R., Carrillo, J. M., & Moreno, C. R. (s/f). *Antioxidant and Antimutagenic Activities of Optimized Extruded Desi Chickpea (Cicer arietinum L) Flours*.
- Torres-Fuentes, C., Contreras, M. del M., Recio, I., Alaiz, M., & Vioque, J. (2015). Identification and characterization of antioxidant peptides from chickpea protein hydrolysates. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.046>
- Udahogora, M. (2012). Health Benefits and Bioactive Compounds in Field Peas, Faba Beans, and Chickpeas. *Cereals and Pulses: Nutraceutical Properties and Health Benefits*.
- USDA/ARS. (2005). *Agriculture Research Service*. www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search.
- Vilcacundo, R., & Hernández-Ledesma, B. (2017). Nutritional and biological value of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Current Opinion in Food Science*, 14, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2016.11.007>
- Vivancos, M., & Moreno, J. J. (2008). Effect of resveratrol, tyrosol and β -sitosterol on oxidised low-density lipoprotein-stimulated oxidative stress, arachidonic acid release and prostaglandin E2 synthesis by RAW 264.7 macrophages. *British Journal of Nutrition*, 99(6), 1199-1207.
- Wang, G., Zhang, H., Lai, F., & Wu, H. (2016). Germinating Peanut (*Arachis hypogaea* L.) Seedlings Attenuated Selenite-induced Toxicity by Activating the Antioxidant Enzymes and Mediating the Ascorbate-

- glutathione Cycle. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b05945>
- Wang, L., Wu, L., Liu, Q., Zhang, D. F., Yin, J. J., Xu, Z., & Zhang, X. Z. (2018). Improvement of flesh quality in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed supranutritional dietary selenium yeast is associated with the inhibited muscle protein degradation. *Aquaculture Nutrition*, 1–10.
<https://doi.org/10.1111/anu.12672>
- Wood, J. A., Knights, E. J., & Choct, M. (2011). Morphology of chickpea seeds (*Cicer arietinum* L.): comparison of desi and kabuli types. *International Journal of Plant Sciences*, 172(5), 632–643.
<https://doi.org/10.1086/659456>
- Xiao, Y., Xing, G., Rui, X., Li, W., Chen, X., Jiang, M., & Dong, M. (2014). Enhancement of the antioxidant capacity of chickpeas by solid state fermentation with *Cordyceps militaris* SN-18. *Journal of Functional Foods*, 10, 210-222.
- Xiaoli, X., Liyi, Y., Shuang, H., Wei, L., Yi, S., Hao, M., & Xiaoxiong, Z. (2008). Determination of oligosaccharide contents in 19 cultivars of chickpea (*Cicer arietinum* L) seeds by high performance liquid chromatography. *Food Chemistry*, 111(1), 215-219.
- Xue, Z., Wen, H., Zhai, L., Yu, Y., Li, Y., Yu, W., Cheng, A., Wang, C., & Kou, X. (2015). Antioxidant activity and anti-proliferative effect of a bioactive peptide from chickpea (*cicer arietinum* L). *Food Research International*.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.09.027>
- Yust, M. ´ia del M., Millan-Linares, M. ´ia del C., Alcaide-Hidalgo, J. M., Millan, F., & Pedroche, J. (2012). Hypocholesterolaemic and antioxidant activities of chickpea (*Cicer arietinum* L.) protein hydrolysates. *J Sci Food Agric*. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5573>
- 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*.
- Zhu, F. (2015). Interactions between starch and phenolic compound. *Trends in Food Science & Technology*, 43(2), 129–143.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.02.003>

Zia-Ul-Haq, M., Iqbal, S., Ahmad, S., Bhangar, M. I., Wiczowski, W., & Amarowicz, R. (2008). Antioxidant potential of desi chickpea varieties commonly consumed in Pakistan. *Journal of Food Lipids*, 15, 326–342.

ANEXOS

Anexo 1. Cartel “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”



“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”.

Esmeralda Mascareño-Montoya^{ab}, Evelia M. Milán-Noris^{ab}, Daniela Guardado-Félix^b, Eslim Sugey Sandoval-Sicairos^b, Alvaro Montoya-Rodríguez^a, A. Keila Milán-Noris^{b*}

^a Maestría en Ciencias de la Nutrición y Alimentos, Unidad Académica de Ciencias de la Nutrición y Gastronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, Sinaloa México. ^b Laboratorio de Nutracéuticos (18), Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, Bv. de las Américas y Josefa Ortiz de Domínguez, S/N, Culiacán Sinaloa México. *keilamilan@uas.edu.mx



INTRODUCCIÓN

- El bioproceso de germinación en presencia de selenio (Se) es una opción para mejorar las propiedades nutraceuticas del garbanzo [1-2].
- El garbanzo (*Cicer arietinum L*) es la segunda leguminosa con mayor importancia a nivel mundial [3].
- Está legumbre ha generado un gran interés debido a que es una buena fuente de proteína (18-30%), calidad nutricional y compuestos bioactivos [4].
- El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la germinación y selenización en garbanzo pigmentado (rojo y negro) sobre el perfil de proteína y el contenido de proteína soluble y compuestos fenólicos.

METODOLOGÍA



RESULTADOS

Acumulación de selenio

El contenido de selenio fue de 8.6 µg Se/g en garbanzo negro y 8.9 µg Se/g en garbanzo rojo a los 5 días de germinación. Los granos de garbanzo desi rojo acumularon un 97.9 % de Se mientras que la variedad negra un 93.7% al día 5 de germinación.

Contenido de fenólicos totales (CFT)

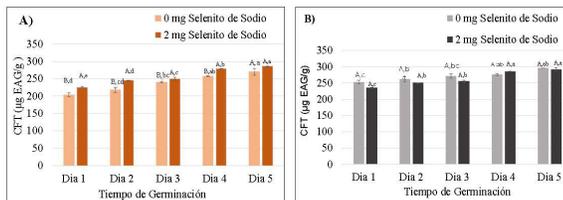


Figura 1. Contenido de Fenólicos totales en garbanzo desi germinado variedad roja 5383 (A) y negra 3761 (B).

Proteína soluble

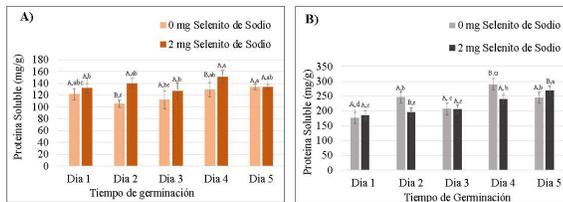


Figura 2. Contenido de Proteína soluble en garbanzo desi germinado variedad roja 5383 (A) y negra 3761 (B).

SDS-PAGE

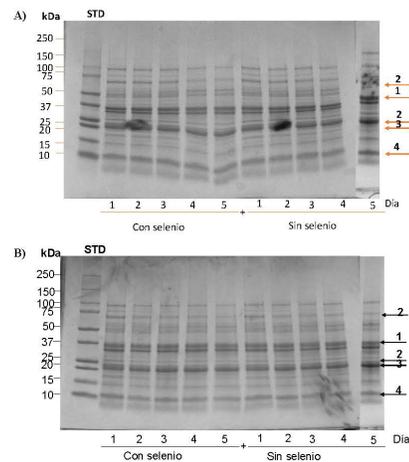


Figura 3. Perfil de proteínas (SDS-PAGE) en garbanzo desi germinado variedad roja 5383 (A) y negra 3761 (B). 1:Globulinas 11s; 2:Globulina 7s; 3:Albumina; 4:Glutelina; STD: Estándar de peso molecular de proteínas Dual color.

CONCLUSION

La combinación de germinación con selenio es una buena estrategia para incrementar el contenido de compuestos bioactivos como selenoproteínas y compuestos antioxidantes en garbanzo pigmentado.

REFERENCIAS

1. Guardado-Félix, D., Sema-Saldivar, S.O., Cuevas-Rodríguez, E.O., Jacobo-Velázquez, D.A. & Gutiérrez-Urbe, J.A. 2017. Effect of sodium selenite on Isoflavonoid contents and antioxidant capacity of chickpea (*Cicer arietinum L.*) sprouts. *Food Chemistry*, 226, 69-74.
2. Sarmiento-Sandoval, S.M., Guardado-Félix, D. & Gutiérrez-Urbe, J.A. 2019. Changes in digestibility of proteins from chickpea (*Cicer arietinum L.*) germinated in presence of selenium and antioxidant capacity of hydrolysates. *Food Chemistry*, 285, 290-295.
3. FAO/STAT. (2019). Chickpea world production. Disponible de: <http://www.fao.org/faostat/> (Consultado el 03 de enero de 2021).
4. Milán-Noris, A. K., De la Rosa-Millán, J., & Sema-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.

Anexo 2. Resumen “Cambios durante el bioprocesamiento de garbanzo pigmentado con selenito de sodio sobre el perfil de proteínas y el contenido de proteína soluble y fenólicos totales”

GERMINADOS SELENIZADOS DE GARBANZO DESI ROJO Y NEGRO

Esmeralda Mascareño Montoya^a, Evelia Milán Noris^{ab}, Daniela Guardado Félix^b, Eslim Sugey Sandoval Sicaños^b, Alvaro Montoya-Rodríguez^{ab}, Ada Keila Milán Noris^{b}*

^a Maestría en Ciencias de la Nutrición y Alimentos Medicinales, Universidad Autónoma de Sinaloa, Ciudad Universitaria, Sinaloa México. ^b Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, Ciudad Universitaria, Sinaloa México.

*keilamilan@uas.edu.mx

Resumen

El proceso de germinación en presencia de selenio (Se) es una opción para mejorar las propiedades saludables de legumbre como el garbanzo. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la germinación, selenización y digestión gastrointestinal *in vitro* sobre el contenido de compuestos bioactivos en garbanzo negro y rojo. La cuantificación de selenio acumulado, composición de fenólicos totales, SDS-PAGE y proteína soluble fueron evaluados en garbanzo tipo Desi germinados y remojados en 2 mg de selenito de sodio (Na₂SeO₃) durante 5 días a 24 ± 1 C. SDS-PAGE mostro la generación de polipéptidos de bajo peso molecular durante los diversos días de germinación. Se encontraron cambios en la composición de fenólicos totales y de igual manera con respecto a su estructura proteica en comparación con los brotes no tratados. En conclusión, se sugiere que esta variedad de garbanzo enriquecida con Se podría ser una alternativa atractiva la cual nos permita en un futuro crear ingredientes o alimentos funcionales para uso común.

Introducción

En los últimos años ha aumentado el consumo de legumbres debido a su alto contenido de proteína, calidad nutricional y fitoquímicos. El garbanzo (*Cicer arietinum* L) es la segunda leguminosa con mayor importancia a nivel mundial y figura importancia agronómica y económica [1]. En México la producción de garbanzo en el año 2020 fue aproximadamente de 202,846 ton.[2], posicionándose entre los primeros diez países con mayor producción. Esta legumbre ha generado un gran interés dentro de la investigación debido a que es una buena fuente de proteína (18-30%), carbohidratos (50%), fibra dietaria, vitaminas, minerales y diversos compuestos fenólicos. En particular el grano tipo Desi ha manifestado tener una mejor calidad proteica y mayor contenido de fitoquímicos en comparación con su otra variedad [3]. La germinación es un bioproceso económico que ha mostrado cambios en la digestibilidad y propiedades biológicas de las proteínas presentes en este grano [4]. El selenio (Se) es un mineral esencial para el ser humano y su ingesta está limitada por

las cantidades que absorben los cultivos del suelo [5]. Se ha encontrado que la adición de selenito de sodio (Na_2SeO_3) durante este bioproceso tiene un impacto favorable en compuestos bioactivos como flavonoides y su capacidad antioxidante. En este trabajo se evalúa el efecto de la germinación y selenización sobre el contenido de compuestos bioactivos en garbanzo negro y rojo.

Metodología

Para la elaboración de este estudio se utilizaron dos cultivos de garbanzo tipo Desi (rojo ICC5383 y negro ICC 3761) los cuales fueron sembrados en el valle de Culiacán en el campo experimental del Instituto Nacional de Ciencias Forestales, Agricultura y Ganadería (INIFAP), localizado en Culiacán, Sinaloa, México. Fueron sujetos a diversas metodologías de análisis como: propiedades físicas del grano, proceso de germinación con selenio, cuantificación de selenio acumulado, contenido de fenólicos totales (CFT), SDS-PAGE y proteína soluble.

Resultados

Los datos obtenidos en esta investigación muestran peculiaridad en diversos comportamientos correspondientes a la variedad del grano. Las propiedades físicas variaron (peso del grano, diámetro y partes anatómicas) excepto en el peso hectolitro; además la acumulación de selenio se localizó en mayor cantidad en la variedad ICC 3761, esto se relaciona al origen genético de la variedad.

En tanto al contenido de fenólicos totales la variedad ICC5383 mostro tener efecto los primeros 4 días tanto en proceso de germinación como adición de selenio. Sin embargo, en la variedad ICC3761 el efecto del selenio no mostro diferencia, pero la germinación si presento en los días 3 y 4. SDS-PAGE (Figura 1) muestra la hidrólisis enzimática que ocurre en las proteínas con respecto a el aumento en días de germinación. Además, permite identificar la generación de polipéptidos de bajo peso molecular después de la germinación de este grano, hecho que pudiera ser explicado por la variabilidad intravarietal en el tipo y actividad total de proteasas de la semilla de garbanzo.

En proteínas solubles si se encontró tener efecto con respecto al proceso de germinación y selenio, suceso el cual se puede relacionar a la proteólisis y síntesis de proteínas que se llevan a cabo de manera natural en este bioproceso mediante la activación de mecanismos bioquímicos. Por otro lado, en la variedad ICC5383 los valores encontrados presentan ser similares a los ya reportados por otros autores, sin embargo, la variedad 3791 mostro valores superiores lo cual se puede explicar debido a los altos valores de proteína reportada en variedad negra.

Conclusiones

El proceso germinación-selenización en garbanzo tipo Desi, mostro efecto en respuesta a su contenido de compuestos bioactivos y produjo cambios en la

bioaccesibilidad y perfil proteico del grano. Lo que hace ser una alternativa atractiva para en un futuro generar ingredientes o alimentos funcionales para uso común.

Referencias

- 1.- FAOSTAT. (2019). Chickpea world production. Disponible de: <http://www.fao.org/faostat/> (Consultado el 03 de enero de 2021).
- 2.- SIAP. Producción de garbanzo en México. SAGARPA, México. Disponible en: http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/AvanceNacionalCultivo.do (Consultado el 03 de enero de 2021).
3. Milán-Noris, A. K., De la Rosa-Millán, J., & Serna-Saldívar, 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.
- 4.- Kenna C. Ohanenye, A. T. (2020). Germination as a bioprocess for enhancing the quality and nutritional. Ottawa, Canada: University Research Chair in Food Properties and Nutrient Bioavailability, School of Nutrition Sciences, Faculty of Health Sciences.
- 5.- Guardado-Félix D., S. O.-S.-R.-V.-U. (2017). Effect of sodium selenite on isoflavonoid contents and antioxidant. Nuevo León, México: Food Chemistry.