

# UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD  
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS

**Determinación de la digestibilidad, bioaccesibilidad y capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos del garbanzo (*Cicer arietinum*) cocido en un modelo gastrointestinal *in vitro***

**TESIS PROFESIONAL PRÁCTICA**

Que para obtener el título de

**LICENCIADO EN CIENCIAS NUTRICIONALES**

Presenta:

**Karen Patricia Quintero Cabello**

Hermosillo, Sonora

Octubre, 2018

# Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos  
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

## APROBACIÓN

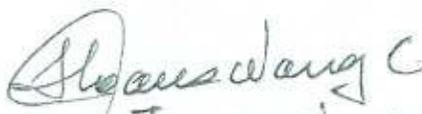
Los miembros del jurado designado para revisar la Tesis Profesional de Karen Patricia Quintanar Cobello la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el Título de lic. en ciencias nutricionales.

  
Carmen Loretta Del Toro Sánchez  
(Título y nombre del Profesor)

Presidente

  
RAMÓN ZEPEDA  
(Título y nombre del Profesor)

Secretario

  
DR. FRANCISCO JAVIER WONG CORREAL  
(Título y nombre del Profesor)

Vocal

  
Dra. Luisa Abundis Rasco Valenzuela  
(Título y nombre del Profesor)

Suplente

## Dedicatorias

Quiero dedicar este trabajo a mi familia, mi mamá Sandra P. Cabello Zavala, a mi papá Martin A. Quintero Siqueiros, por enseñarme a salir adelante, a no rendirme, por ser mi ejemplo, por apoyarme en todo; y a mi hermana I. Jaqueline Quintero Cabello. A Allam E. Jaime Aguilar por darme ánimos cuando los necesitaba, por estar conmigo siempre y apoyarme en todo momento. A Liliana M. Pérez Pérez (Lili) por todo su apoyo, por ayudarme a crecer, por compartirme su conocimiento, por su enorme paciencia, por darme ánimos para seguir.

A mi amiga Leslie García Borbón por estar siempre dándome ánimos, por escucharme siempre que me sentía mal, por todos los momentos de risa y tristeza que pasamos en el laboratorio junto a Lili. A mis nuevos amigos (hermanos) Lili, Leslie, Iván, Fernanda, Isabel, Sandra, Lucía y Fátima, por apoyarme, por sus consejos, por escucharme en los mini seminarios, por permitirme formar parte de su familia y todos los momentos divertidos que pasamos. A mis amigas Areli S. Solís Larios, Guadalupe Salcido Amavizca, Jessica Ávila Prado, por darme ánimos y apoyarme siempre, y a todas aquellas personas que de una u otra forma formaron parte de mi vida en ese momento.

## **Agradecimientos**

A la Universidad de Sonora por abrirme las puertas de su institución como estudiante, por brindar sus instalaciones y equipo necesario para la realización de este trabajo.

A mis maestros por hacerme crecer profesionalmente.

A mi directora de tesis Dra. Carmen Lizette Del-Toro-Sánchez. Por aceptarme y permitirme formar parte de su tan unido equipo de trabajo, por compartir sus conocimientos, por su disposición, por ser esa persona tan linda y paciente, por sus consejos y por ayudarme a crecer personal y profesionalmente.

A mi comité de tesis Dr. Ramón Enrique Robles Zepeda, Dr. Francisco Javier Wong Corral y Dra. Luisa Alondra Rascón Valenzuela por su apoyo y disposición durante la realización de este trabajo.

## CONTENIDO

	P
Lista de tablas .....	7
Lista de figuras .....	8
Resumen.....	9
I. Introducción .....	10
II. Objetivos.....	12
III. Antecedentes .....	13
3.1. Garbanzo ( <i>Cicer arietium</i> ) .....	13
3.2. Compuestos fenólicos .....	15
3.2.1. Compuestos fenólicos del garbanzo .....	18
3.3. Actividad antioxidante.....	20
3.4. Digestión .....	22
3.5. Digestibilidad y biodisponibilidad de los compuestos fenólicos .....	24
IV. Justificación.....	27
V. Hipótesis.....	28
VI. Metodología .....	29
6.1. Obtención de la muestra .....	29
6.2. Remojo de la muestra .....	29
6.3. Cocimiento a vapor del garbanzo.....	30
6.4. Análisis proximal .....	30
6.5. Determinación de textura y color.....	30
6.6. Extracción de compuestos fenólicos .....	31
6.7. Determinación de de fenoles totales .....	32
6.8. Determinación de la capacidad antioxidante .....	33
6.9. Determinación de la bioaccesibilidad y digestibilidad <i>in vitro</i> .....	36
6.10. Análisis estadístico .....	38
VII. Resultados y discusiones .....	38
7.1. Análisis proximal .....	40
7.2. Otras determinaciones de calidad .....	42
7.3. Determinación de compuestos fenólicos totales .....	43
7.4. Determinación de la capacidad antioxidante por DPPH, ABTS y FRAP .....	45
7.5. Sistema de simulación gastrointestinal <i>in vitro</i> .....	49

VIII. Conclusiones ..... 53

IX. Referencias ..... 54

....

## Lista de tablas

	Pag.
<b>Tabla 1.</b> Compuestos fenólicos en garbanzo crudo y cocido .....	19
<b>Tabla 2.</b> Compuestos fenólicos bioaccesibles en leguminosas .....	25
<b>Tabla 3.</b> Análisis proximal en garbanzo crudo y cocido .....	39
<b>Tabla 4.</b> Determinación de color de garbanzo crudo y cocido.....	43
<b>Tabla 5.</b> Cuantificación de compuestos fenólicos totales de extractos crudos y cocidos de garbanzo.....	44
<b>Tabla 6.</b> Determinación de capacidad antioxidante de extracto crudo y cocido de garbanzo por radical DPPH.....	46
<b>Tabla 7.</b> Determinación de capacidad antioxidante de extracto crudo y cocido de garbanzo por radical ABTS.....	47
<b>Tabla 8.</b> Determinación de capacidad antioxidante de extracto crudo y cocido de garbanzo por radical FRAP.....	49
<b>Tabla 9.</b> Cuantificación de compuestos fenólicos en fracciones no dializadas y dializadas de extractos libres, conjugados y ligados de garbanzo cocido.....	50
<b>Tabla 10.</b> Determinación de capacidad antioxidante en fracciones no dializadas y dializadas de extractos libres, conjugados y ligados de garbanzo cocido.....	52

## Lista de figuras

		Pag.
<b>Figura 1.</b>	Garbanzo Desi y garbanzo Kabuli .....	14
<b>Figura 2.</b>	Estructura general y ejemplos de compuestos fenólicos del tipo flavonoide. Imagen tomada de Tenorio-López et al., (2006). .....	16
<b>Figura 3.</b>	Ejemplos de compuestos fenólicos del tipo no flavonoides. Imagen tomada de Peñarrieta <i>et al.</i> (2014) .....	17
<b>Figura 4.</b>	Antioxidante (molécula estable) y radical libre (molécula inestable).....	21
<b>Figura 5.</b>	Partes del Sistema Gastrointestinal. Imagen tomada de: .....	24
<b>Figura 6.</b>	Liberación de compuestos fenólicos durante la digestión .....	26
<b>Figura 7.</b>	Diagrama de flujo de la metodología.....	29
<b>Figura 8.</b>	Extractos de compuestos fenólicos.....	32
<b>Figura 9.</b>	Reacción química reactivo de folin.....	33
<b>Figura 10.</b>	Reacción del radical DPPH con un compuesto antioxidante .....	34
<b>Figura 11.</b>	Generación del radical catiónico ABTS <sup>+</sup> .....	35
<b>Figura 12.</b>	Reacción de FRAP .....	36
<b>Figura 13.</b>	Simulación del sistema gastrointestinal <i>in vitro</i> .....	37
<b>Figura 14.</b>	Absorción de agua (%) y dureza (Newtons/g) durante el remojo del garbanzo.....	41

## Resumen

El consumo de legumbres ha disminuido en los últimos años, sin embargo, éstas son un excelente alimento ya que contienen alta cantidad de nutrientes, como el garbanzo por ser rico en carbohidratos y proteínas, también contiene vitaminas del complejo B y minerales. Adicionalmente tiene componentes bioactivos que desempeñan funciones benéficas para la salud, como los compuestos fenólicos, donde éstos se pueden encontrar de tres formas: libres, conjugados y ligados. Los libres y conjugados, están más disponibles para la absorción; y los ligados están unidos a la pared celular por lo que no son fácilmente digeribles. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue determinar la digestibilidad, bioaccesibilidad y capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos del garbanzo cocido en un modelo gastrointestinal *in vitro*. Mediante el análisis proximal realizado al garbanzo crudo y cocido se determinó que, ambos son ricos en carbohidratos (44.84 y 67.2 % respectivamente), proteínas (28.4 y 18.55%), fibra (7.41 y 7.20%) y grasa (6.23 y 5.35 %). Previo al cocimiento se requirieron 8 horas de remojo con una absorción de agua máxima de 55%. Adicionalmente, se midió el color a los granos del garbanzo formando parte de la clasificación de garbanzo blanco. Los compuestos fenólicos ligados del garbanzo crudo y cocido representaron la mayor cantidad de compuestos fenólicos (2.6 y 1.82 mg EAG/g respectivamente) y capacidad antioxidante en DPPH (54.32 y 26.38  $\mu\text{molET/g}$ ), ABTS (34.33 y 30.02  $\mu\text{molET/g}$ ) y FRAP (0.729 y 0.311  $\mu\text{molET/g}$ ). Después de la digestibilidad *in vitro* los compuestos fenólicos libres y conjugados fueron los más bioaccesibles, contrariamente a los ligados los cuales aproximadamente 70% no fueron absorbidos. Por lo tanto se concluye que el garbanzo es un grano de alta de calidad nutricional y antioxidante, sin embargo se ve limitada la absorción de los compuestos fenólicos ligados que son los que se encuentran en mayor cantidad por la falta de enzimas digestivas específicas para liberar a estos compuestos. Consecuentemente, esta investigación deja las bases para que en estudios posteriores se utilicen otros medios para mejorar la bioaccesibilidad y biodisponibilidad de estos compuestos.

## I. Introducción

Hoy en día el consumidor ha hecho cambios en la selección de alimentos para la dieta, en donde además de inocuidad, y de abastecimiento de nutrientes esenciales, demanda alimentos que contengan compuestos bioactivos que auxilien en la reducción del riesgo de enfermedades crónicas, un gran ejemplo de este tipo de alimentos son las leguminosas (FAO,2016). En México, las leguminosas son un producto básico que forman parte de la alimentación de la población de diferentes tipos de clases sociales, ya que representan gran fuente de proteínas compuestas de aminoácidos esenciales, ricas en lisina y pobres en los de tipo azufrados como lo son cisteína y metionina, además que son una fuente importante de hierro y zinc. Son fáciles de obtener y tienen bajo costo (Gaytán, 2015).

Además de todos estos factores, también contienen un valor importante de compuestos bioactivos, principalmente ácidos fenólicos y flavonoides. La presencia de estos compuestos, considerados altamente antioxidantes, es lo que hacen atractivo a las leguminosas y de esta manera pueden llegar a contribuir de forma positiva a la salud. El garbanzo (*Cicer arietinum* L.) es buen ejemplo de estas leguminosas. En México el garbanzo ocupa el tercer lugar en la producción de leguminosas, después del frijol y la soya. A nivel nacional Sonora ocupa el segundo lugar después de Sinaloa. Los principales municipios productores de garbanzo en el estado de Sonora son: Hermosillo (90%), Cajeme (5.2%), Navojoa (2.7%) y Guaymas (1.74%) (SIAP, 2017). Sonora es uno de los principales estados productores de garbanzo del país gracias al tipo de clima que hay en este estado, favoreciendo el crecimiento del garbanzo y esto puede contribuir a la accesibilidad de este producto para los consumidores.

Los compuestos fenólicos de las legumbres, como ácido ferúlico, ácido p-hidroxibenzoico y ácido gálico, están presentes en alimentos como el garbanzo. Al momento de ingerir el grano entra en acción la digestión en la cual intervienen varias enzimas que ayudan a degradar los compuestos complejos a sus formas más simples (digestibilidad) con el fin de que éstos sean mejor absorbidos a través del intestino (bioaccesibilidad), pasando así a suero y de ahí distribuyéndolos a las diferentes células para ejercer su acción (biodisponibilidad). La digestión comienza por la boca (alfa-amilasa), siguiendo por el estómago (pepsina) y finalmente llegando al intestino

(pancreatina) (Hall *et al.*, 2011). Sin embargo, se tiene muy poca información del proceso que sufren los compuestos fenólicos del garbanzo cocido durante la digestión y la cantidad bioaccesible, además que no se sabe si realmente estos compuestos llegan a cumplir con su función principal dentro del organismo, de ahí el interés de este trabajo de investigación.

## II. OBJETIVOS

### Objetivo general

Determinar la digestibilidad, bioaccesibilidad y capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos del garbanzo (*Cicer arietinum*) cocido en un modelo gastrointestinal *in vitro*.

### Objetivos específicos

1. Determinar los parámetros fisicoquímicos y calidad del garbanzo crudo y cocido.
2. Cuantificar y medir la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos del garbanzo antes y después del cocimiento.
3. Evaluar la digestibilidad y bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos del garbanzo cocido en un modelo gastrointestinal *in vitro*.

### III. Antecedentes

#### 3.1. El garbanzo (*Cicer arietinum*)

Las leguminosas, son una familia muy extensa, que abarca más de trece mil especies y entre estas especies sobresalen el frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), la lenteja (*Lens culinaris* L.) y el garbanzo (*Cicer arietinum* L.). Ésta última fue una de las primeras leguminosas domesticadas en el viejo mundo, se dice esto, porque existe evidencia arqueológica que indica que fue utilizado como alimento y ofrenda en los años 2000 al 1400 a.C. Los españoles fueron los que introdujeron el garbanzo a nuestro país durante la conquista y posterior colonización, y a partir del siglo XX se introdujo en el Noroeste de México, donde encontró una excelente adaptación (Morales *et al.*, 2004).

La planta del garbanzo, es una planta anual, tiene raíces profundas, tallos pelosos y ramificados, que alcanzan una altura de hasta 0.60 m. La planta tiene abundancia de glándulas excretoras; las hojas son pari o imparipinnadas; folíolos de borde dentado; flores axilares solitarias; frutos en vaina bivalva con una o dos semillas en su interior, ligeramente arrugadas, con dos grandes cotiledones (Morales-Gómez *et al.*, 2004). Existen dos tipos de garbanzo: kabuli y desi (Figura 1) y se pueden diferenciar morfológicamente; kabuli forma vainas relativamente largas, sus semillas son grandes, menos arrugadas, pueden ser de color negro, amarillo, verde y crema. Las plantas son más grandes que el tipo desi y sus tallos, hojas y flores no contienen pigmentación antocianica y por lo general se cultiva en regiones templadas. Este tipo de garbanzo se destina a consumo humano. El tipo desi, son semillas pequeñas y de color marrón, contiene una capa áspera con una angularidad pronunciada y la superficie fuertemente estriada, este tipo de garbanzo es destinado a consumo animal y es cultivado en los trópicos semiáridos (Ravi, 2005; Jukanti *et al.*, 2012; Clara *et al.*, 2014; Maheri-Sis *et al.*, 2008).

A nivel mundial el garbanzo sólo se cultiva en 33 países; y únicamente 20 siembran más de 20,000 ha. Entre estos países destacan: India, Turquía, Australia, Canadá, Siria, México, España, Marruecos, Estados Unidos, Pakistán, Etiopía, Túnez, entre otros (FAO, 2008). En el año 2017, el principal productor de garbanzo en México fue el estado de Sinaloa con una producción de 122 mil toneladas, ocupando el segundo lugar Sonora con una producción de 65 mil toneladas y otros estados como Baja California Sur con 13 mil toneladas (SAGARPA, 2017).

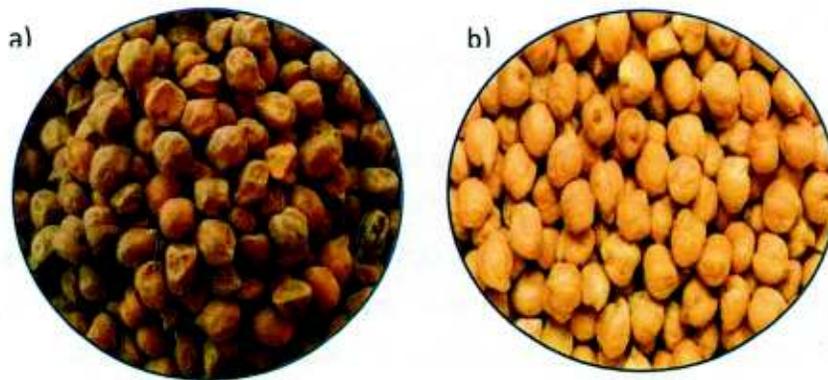


Figura 1. Garbanzo del tipo a) desi y b) kabuli

En los estados de Sinaloa y Sonora se cultiva el garbanzo de más alta calidad, el cual se caracteriza por su buen calibre, color y rugosidad. Otro factor importante es que el cultivo de garbanzo soporta sequías y heladas, dando una ventaja con estas características al estado de Sonora. El 80 % de la producción de estos dos estados cumple con las normas de exportación y el restante constituye la rezaga, que generalmente se vende al mercado nacional.

En cuanto a su valor nutricional, hay dos tipos de nutrientes: a) macronutrientes, que son los que se requieren en mayor proporción como lo son las proteínas, carbohidratos y lípidos; y los b) micronutrientes, éstos se requieren en menor proporción, pero son fundamentales para intervenir en funciones vitales para el organismo, como las vitaminas y minerales (Cámara-Hurtado *et al.*, 2003). El garbanzo contiene en promedio 70% de carbohidratos, 5.3% de lípidos, 3.9% de fibra y 17% de proteínas (Grelde *et al.*, 1997). Las proteínas son ricas en lisina y arginina, pero son deficientes en aminoácidos azufrados como metionina y cisteína (Maheri-Sis *et al.*, 2008). Es buena fuente de minerales como calcio, magnesio, zinc, potasio, hierro y fósforo, así como tiamina y niacina (Williams *et al.*, 1987; Kaur *et al.*, 2005). Además, contiene componentes que no son nutritivos, pero desempeñan funciones metabólicas benéficas para la salud, tales como alcaloides, isoflavonas, una gran variedad de oligosacáridos y compuestos fenólicos. Generalmente las leguminosas, como el garbanzo, presentan mayor cantidad de compuestos fenólicos que los cereales (<1%) (Muzquiz y Wood, 2007). Por lo tanto, se puede considerar para preparar alimentos funcionales, ya que contienen concentraciones importantes de compuestos fenólicos y flavonoides, cuyo contenido puede variar dependiendo el tipo de garbanzo (Segev *et al.*, 2010).

### 3.2. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos constituyen una de las familias más numerosas y ampliamente distribuidas en el reino vegetal, con más de 8,000 estructuras actualmente conocidas, están involucrados en el crecimiento, la reproducción y confieren resistencia a las plantas frente a agentes patógenos. Por lo tanto, la presencia de estos compuestos en las plantas es muy variada dependiendo de múltiples factores como la especie, procedencia, variedad, parte vegetal o extrínsecos como la intensidad lumínica, temperatura, maduración, zona de cultivo, entre otras (Mateos, 2013). Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios del metabolismo de las plantas, por lo que se encuentran en casi todos los alimentos de origen vegetal. Estas sustancias influyen en la calidad, aceptabilidad y estabilidad de los alimentos, ya que aportan colores rojos, azules y violáceos, así mismo proporcionan sabor amargo y astringente a algunos cítricos (Gimeno, 2004; Gil *et al.*, 2010).

En cuanto a su estructura los compuestos fenólicos poseen un anillo aromático en común (anillo del benceno), con uno o más grupos hidroxilos incluyendo derivados funcionales (ésteres, metil ésteres, glicósidos, etc.) (Tsimidou, 1998). Pueden clasificarse de muchas maneras ya que tienen gran diversidad estructural, pero según su estructura química se puede dividir en dos grandes grupos: flavonoides y no flavonoides.

a) Flavonoides: Formados por 2 grupos bencénicos (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>) unidos por un puente tricarbonado (Figura 2) y se divide en 3 subgrupos que son:

- Antocianos
- Flavonas, flavononas, flavanoles y flavanonoles
- Flavanoles, taninos condensados y lignanos

(Gimeno, 2004)

b) No flavonoides: En este gran grupo se pueden dividir en dos subgrupos que son los fenoles no carboxílicos (C<sub>6</sub>, C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>, C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>) y ácidos fenólicos (derivados del ácido benzoico y derivados del ácido cinámico) (Figura 3).

Estos compuestos forman parte de un grupo muy heterogéneo; comprenden desde simples moléculas, como el ácido fenólico, hasta compuestos altamente polimerizados, como los taninos. Se presentan en las plantas en forma conjugada con uno o más residuos de azúcar unidos a los grupos hidroxilo, la forma más común de encontrarlos en la naturaleza es en forma de glicósidos, siendo solubles en agua y solventes orgánicos (Peñarrieta *et al.*, 2014).

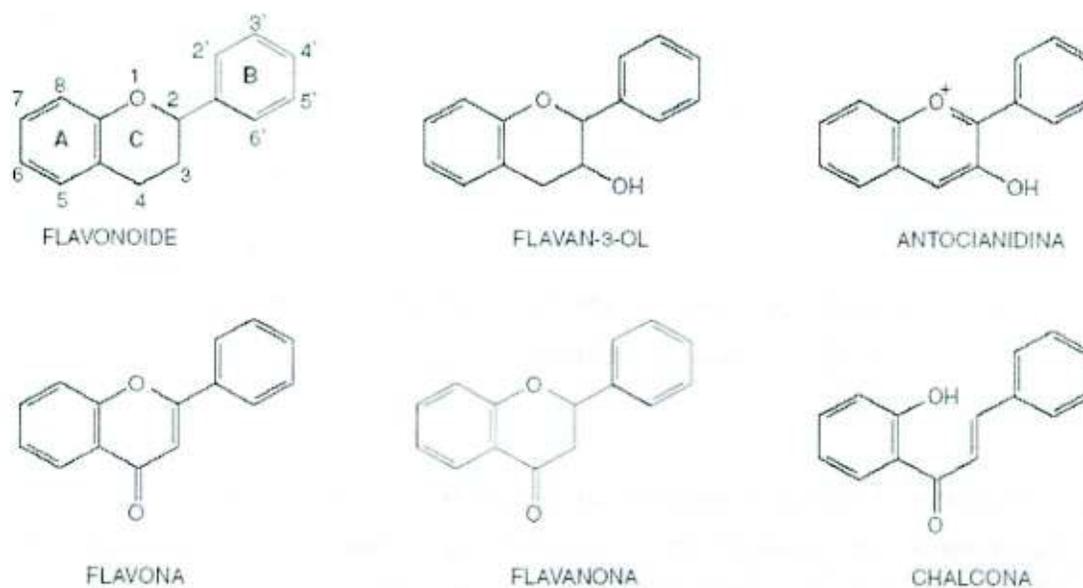


Figura 2. Estructura general y ejemplos de compuestos fenólicos del tipo flavonoide.

Imagen tomada de Tenorio-López *et al.*, (2006).

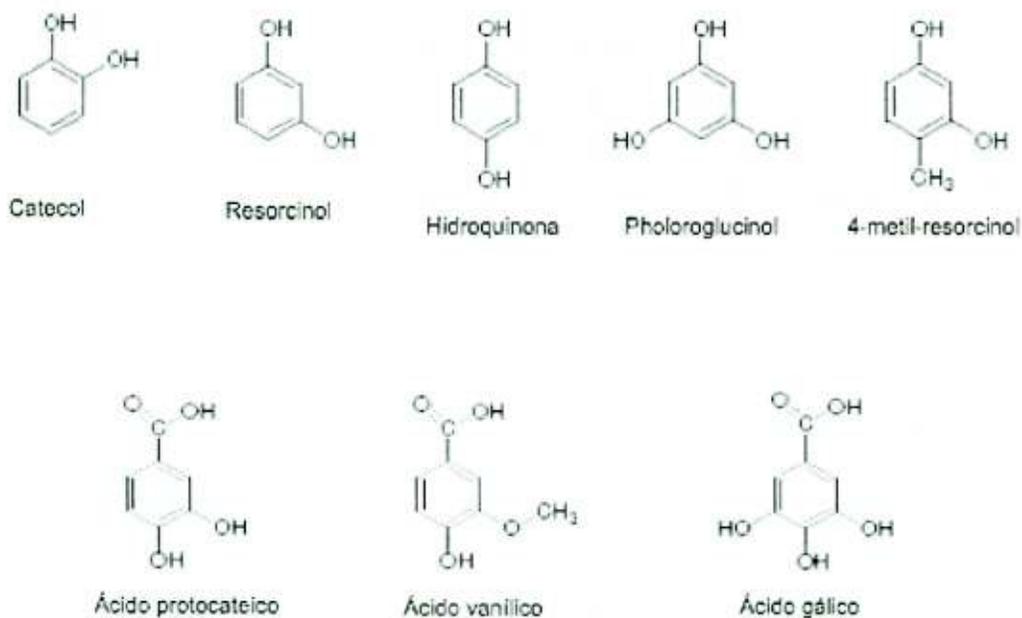


Figura 3. Ejemplos de compuestos fenólicos del tipo no flavonoides.

Imagen tomada de Peñarrieta *et al.* (2014)

Los compuestos fenólicos presentes en alimentos se extraen generalmente con disolventes acuoso-orgánicos. La extracción dependerá de la naturaleza química y del grado de polimerización de los propios compuestos, del método de extracción (polaridad de los solventes), del tamaño de partícula de la muestra y de las sustancias que pueden ejercer un efecto de interferencia. A veces se requieren pasos adicionales o previos a la extracción para eliminar sustancias no deseadas que pueden interferir en nuestros análisis (grasa, carbohidratos, clorofilas) normalmente mediante extracción en fase sólida (Robins, 2003). En general cualquier proceso está basado en una primera extracción con disolventes orgánicos o la mezcla de algunos de ellos (metanol, etanol, propanol, acetona, agua, dimetilformamida, acetato de etilo) obteniéndose en el extracto una mezcla de diferentes compuestos polifenólicos (Antolovich *et al.*, 2000). Además de los disolventes, también el tiempo de extracción es determinante a la hora de obtener un mayor rendimiento. Se han reportado tiempos de extracción desde 1 minuto a 24 horas (Price *et al.*, 2008; Cork y Krockengerg, 1991; Davis, 1978; Maxsón y Rooney, 1972). Las condiciones de extracción y la selección de los disolventes dependen del tipo de muestra y de la naturaleza de los compuestos que se quiera extraer.

Lo más destacable de los compuestos fenólicos son sus propiedades antioxidantes. Por un lado, son muy susceptibles a ser oxidados y por otro, impiden que los metales catalicen las reacciones de oxidación. Así, los grupos hidroxilo, al estar unidos a un anillo bencénico, presentan la posibilidad de que el doblete del átomo de oxígeno interactúe con los electrones del anillo, lo que les confiere unas características especiales respecto al resto de alcoholes. Por otro lado, pueden actuar de quelantes (sobre todo los fenoles no flavonoides) y formar complejos con metales di o trivalentes, especialmente con el hierro y el aluminio, lo que puede tener también implicaciones nutricionales. Estas sustancias a pesar de estar en bajas concentraciones en los alimentos, pueden prevenir algunos de los procesos implicados en el desarrollo de cáncer, enfermedades cardiovasculares o incluso de enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer. De todos los compuestos fenólicos, el grupo de los flavonoides es el más extendido en la naturaleza y dentro de ellos, los flavonoles son los que poseen un mayor potencial antioxidante. Estudios epidemiológicos han demostrado que una ingestión rica en flavonoides se correlaciona con un menor riesgo de enfermedad cardiovascular y se ha observado que actúan a diferentes niveles (Denny y Buttriss, 2007).

### 3.2.1 Compuestos fenólicos en el garbanzo

En las leguminosas, los principales compuestos fenólicos son los ácidos fenólicos, los flavonoides y los lignanos, sin embargo, las variedades de tonalidades de color más oscuras de las leguminosas, contienen cantidades más altas de compuestos fenólicos, por lo que el garbanzo desi generalmente tendrá un mayor contenido de compuestos fenólicos que la variedad kabuli (Yadab *et al.*, 2007.) En el estudio realizado por Yadab (2007) en garbanzo desi y kabuli se encontró que contienen de 0.84 a 6.00 y 0.02 a 2.20 mg/g de compuestos fenólicos, respectivamente. En la Tabla 1 se muestran algunos compuestos fenólicos identificados en garbanzo.

Estos compuestos fenólicos pueden tener un efecto beneficioso sobre algunas de las enfermedades humanas importantes, como la enfermedad cardiovascular, diabetes tipo 2, enfermedades digestivas y algunos cánceres. Estudios han demostrado que incluir garbanzo en la dieta disminuye el riesgo de cáncer colorrectal, cáncer de próstata y cáncer de pulmón, además que los fitoesteroles del garbanzo ayudan a reducir la presión arterial (Jukanti, 2012). Asimismo se ha demostrado que el consumo de garbanzo ayuda en la disminución del colesterol total (Pittaway J. K., *et al.*, 2008).

El garbanzo no solo tiene efectos benéficos en la salud, Saleem *et al.*, (2018) crearon una película a base de polisacáridos del garbanzo, las cuales mostraron un efecto antioxidante, lo que indica que las películas podrían ser utilizadas en envases para alimentos.

Tabla 1. Compuestos fenólicos en garbanzo crudo y cocido

Compuesto fenólico	Compuestos fenólicos $\mu\text{g/g}$		Referencia
	Garbanzo crudo	Garbanzo cocido	
Acido gálico	40.2 43	12.6	Hitamani G., <i>et al.</i> , 2014 Yadav S., <i>et al.</i> , 2007
Ácido protocatecuico	358.9	466.8	Hitamani G., <i>et al.</i> , 2014
Ácido gentístico	26	13.6	Hitamani G., <i>et al.</i> , 2014
Ácido vanílico	80.8	7.54	Hitamani G., <i>et al.</i> , 2014
Acido p-cumarico	-	0.33	Hitamani G., <i>et al.</i> , 2014
Acido ferúlico	0.90	0.97	Hitamani G., <i>et al.</i> , 2014
Acido salicílico	-	76.6	Hitamani G., <i>et al.</i> , 2014
Ácido siringico	222.1 52	222.1	Hitamani G., <i>et al.</i> , 2014 Yadav S., <i>et al.</i> , 2007

### 3.3. Actividad antioxidante

La actividad antioxidante se puede considerar como la actividad biológica responsable de inhibir la oxidación de biomoléculas importantes (Soobrattee *et al.*, 2005). Hoy en día se sabe que la mayor parte del daño oxidativo en los sistemas biológicos se debe a que la utilización del oxígeno por las células da lugar a la generación de radicales libres. Los radicales libres son átomos o grupos de átomos que tienen un electrón desapareado por lo que son muy reactivos ya que tienden a captar un electrón de moléculas estables con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica. Una vez que el radical libre ha conseguido sustraer el electrón que necesita, la molécula estable que se lo cede se convierte a su vez en un radical libre por quedar con un electrón desapareado, iniciándose así una verdadera reacción en cadena que destruye nuestras células. La vida media biológica del radical libre es de microsegundos, pero tiene la capacidad de reaccionar con todo lo que esté a su alrededor provocando un gran daño a moléculas, membranas celulares y tejidos (Avello, 2006).

La mayor parte de los radicales libres son neutralizados por antioxidantes, ya que al chocar el radical libre con el antioxidante, éste último le cede un electrón, oxidándose y transformándose en un radical libre débil no tóxico, esto con el objetivo de mantener el equilibrio prooxidante/antioxidante. Los antioxidantes se pueden clasificar en 2 grupos: endógenos y exógenos. Los endógenos son los sintetizados por el organismo como un mecanismo de defensa intrínseco, y los exógenos los que se adquieren principalmente a través de los alimentos (Lacalle, 2007).

El potencial antioxidante de los compuestos fenólicos se debe a su capacidad quelante y captura de radicales libres (Alamed *et al.*, 2009) (Figura 4). En general, se puede decir que esta propiedad va a depender de la estructura química de los compuestos y de la presencia de grupos hidroxilo presentes en la molécula. Existen diversos métodos para evaluar el potencial antioxidante, dentro de éstos, los más utilizados son en base a captación de radicales como lo son el 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazil (DPPH) y 2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolin-6-sulfonic) (ABTS). La molécula de DPPH y de ABTS se caracterizan por ser radicales libres sintéticos estables, que al momento de estar en contacto con una sustancia que pueda donar un átomo de hidrógeno (antioxidante), reduce a los radicales con la pérdida de color violeta intenso con

absorción de 517 nm en el caso del radical DPPH y el color verdoso-azulado con absorción de 734 nm del radical ABTS (Molyneux, 2004; Gutiérrez *et al.*, 2008).

Por otra parte, la capacidad de ejercer el potencial antioxidante de los compuestos fenólicos va a depender de su bioaccesibilidad en el alimento y su biodisponibilidad en el tracto gastrointestinal (Saura-Calixto, 2010). La bioaccesibilidad se define como la cantidad de un componente del alimento que está presente en el intestino humano como consecuencia de su liberación de la matriz del alimento, y que puede ser capaz de atravesar la barrera intestinal. En cambio, la biodisponibilidad se define como la cantidad y velocidad a la que el principio activo se absorbe y llega al lugar de acción. Por lo tanto, para que un compuesto fenólico sea potencialmente biodisponible, primeramente, debe estar bioaccesible en la matriz del alimento (Balde, 2014).

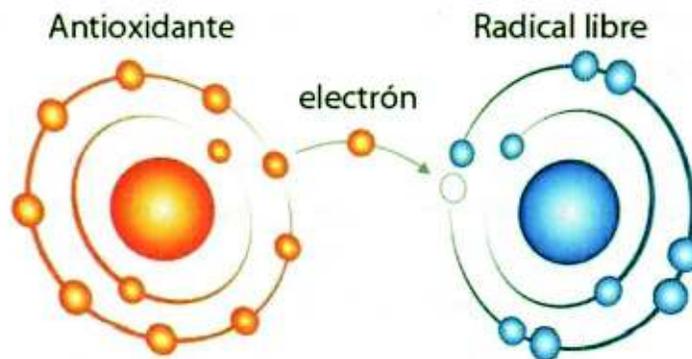


Figura 4. Antioxidante (molécula estable) y radical libre (molécula inestable).

Imagen tomada de: <https://curiosoando.com/que-son-los-prooxidantes/antioxidante-neutraliza-radical-libre>

Además, la biodisponibilidad de los compuestos fenólicos también puede verse afectada por las diferencias en la concentración dentro de los tejidos vegetales, variaciones en la pared celular, estructura, ubicación de glucósidos en células y unión de compuestos fenólicos compuestos dentro de la matriz alimentaria. Los métodos de preparación culinaria también tienen un marcado efecto en el contenido de polifenoles de los alimentos. Por ejemplo, el simple pelado de las frutas y las verduras puede eliminar una porción significativa de polifenoles ya que estas

sustancias a menudo están presentes en concentraciones más altas en la cascara que en la pulpa (Parada y Aguilera, 2007).

### 3.4. Digestión

La digestión es el proceso realizado por el aparato digestivo que se encarga de descomponer los alimentos y esto nos permite absorber y utilizar los nutrientes y compuestos bioactivos en distintas partes del organismo, para esto se requiere:

- 1) El tránsito de los alimentos a lo largo de todo el tubo digestivo
- 2) Secreción de los jugos digestivos y la digestión de los alimentos
- 3) Absorción de los productos digeridos
- 4) Circulación de la sangre por las vísceras gastrointestinales para transportar las sustancias absorbidas.

Los órganos que forman el sistema digestivo son la boca, el esófago, el estómago, el intestino delgado, el intestino grueso, el recto y el ano (Figura 5) (NIDDK, 2008; National Geographic society, 2013).

#### 3.4.1. La boca

Es la entrada para los alimentos y en ella se llevan a cabo distintos mecanismos donde intervienen los dientes que son los encargados de triturar los alimentos (proceso mecánico). La lengua ayuda a juntar los pequeños trozos y hacer un bolo de forma redonda para así poder tragarlo. La saliva lleva a cabo el mecanismo enzimático, en ella se encuentra la enzima  $\alpha$ -amilasa salival, que es la encargada de romper moléculas grandes en más pequeñas, especialmente el almidón.

#### 3.4.2. El esófago

Es un órgano hueco y es el encargado de conducir el bolo alimenticio que va desde la parte superior de la garganta hasta el estómago. En la parte superior se encuentra una parte llamada epiglotis y se encarga de dar paso a el bolo para que llegue al estómago.

#### 3.4.3. El estómago

Es un compartimento grande y musculoso que se encarga de mezclar el bolo con los jugos digestivos incluidas las enzimas pepsinas que procesan las proteínas y lipasas que absorben las grasas. En el estómago también se encuentra el ácido clorhídrico y ayuda a disolver el contenido

del estómago quedando así una pasta semifluida (quimo), es sellada en el estómago por dos esfínteres en forma de un anillo durante varias horas para después ser liberada en el duodeno.

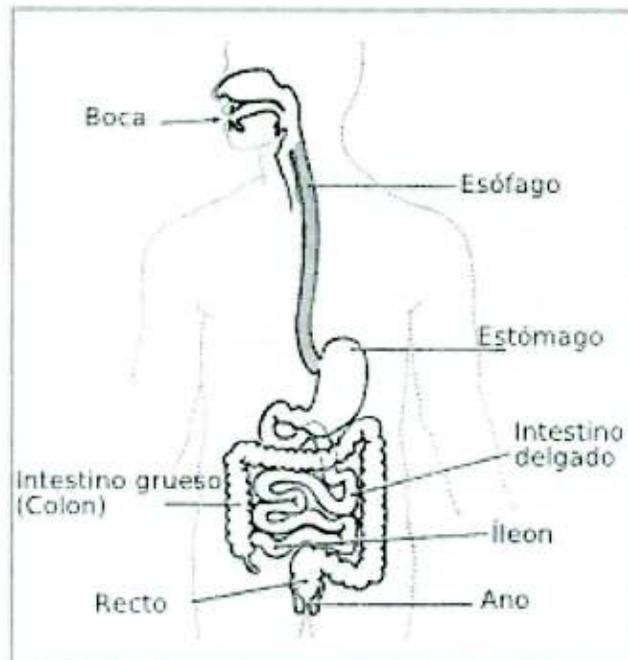
#### 3.4.4. Intestino delgado

La primera de las tres secciones del intestino delgado, el duodeno, produce grandes cantidades de mucus para proteger la pared intestinal del ácido del quimo. De unos 6 metros de longitud, el intestino delgado es donde tiene lugar la mayor parte de la digestión y absorción de nutrientes. Estos nutrientes se incorporan al flujo sanguíneo, a través de millones de diminutas proyecciones en forma de dedo llamadas vellosidades, y se transportan al hígado.

#### 3.4.5. Intestino grueso

Lo que queda en el tracto digestivo pasa al intestino grueso, donde es consumido por billones de bacterias no dañinas y mezclado con células muertas para formar heces sólidas. El agua la reabsorbe el cuerpo, mientras que las heces pasan al recto en espera de su expulsión.

Existen otros órganos que tienen funciones claves que auxilian para llevarse a cabo una buena digestión, estos órganos son el hígado, el páncreas y la vesícula biliar. El hígado tiene un gran número de funciones y alguna de estas son: procesar los nutrientes absorbidos ya en la sangre por el intestino delgado y crea glucógeno a partir de carbohidratos y convierte algunas proteínas alimenticias en otras proteínas que son necesarias para nuestro cuerpo. El hígado también descompone sustancias químicas no deseadas, como cualquier tipo de alcohol ingerido, cuya toxicidad se elimina y pasa por el cuerpo como desecho. El páncreas es una glándula situada detrás del estómago que genera un combinado de enzimas que es bombeado al duodeno. Un conducto también conecta el duodeno con la vesícula biliar. Este saco en forma de pera produce bilis marrón verdoso, un producto de desecho recogido del hígado que contiene ácidos para disolver la materia grasa (Hall *et al.*, 2011).



**Figura 5.** Partes del Sistema Gastrointestinal. Imagen tomada de:  
[https://es.vikidia.org/wiki/Intestino\\_grueso](https://es.vikidia.org/wiki/Intestino_grueso).

Todo este proceso es el que se lleva a cabo al momento de consumir un alimento; en la actualidad se tiene mucha información sobre el proceso que sufren los nutrientes esenciales dentro de la dieta (carbohidratos, proteínas y lípidos), pero se tiene muy poca información del proceso que sufren los compuestos bioactivos (Muñoz *et al.*, 2007), y si realmente llegan a cumplir con su función principal.

### **3.5. Digestibilidad y bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos**

Las propiedades biológicas y la biodisponibilidad de algunos polifenoles dependen en gran medida de su liberación de la matriz alimentaria (bioaccesibilidad) y su posterior interacción con los tejidos diana (biodisponibilidad). Hoy en día, la matriz alimenticia se considera un factor importante en la biodisponibilidad. Sin embargo, durante la masticación y la digestión gástrica, la estructura y las interacciones de los compuestos fenólicos con la matriz alimentaria pueden modificarse. Esto puede disminuir o mejorar su bioaccesibilidad en el intestino delgado (Gutierrez-

Grijalva, 2015). Se ha reportado la bioaccesibilidad de compuestos fenólicos en diversos grupos de leguminosas (Tabla 2).

Tabla 2. Compuestos fenólicos bioaccesibles en leguminosas

Muestra	Extracto	Compuestos	
		bioaccesibles(mg GAE/g muestra)	Referencias
Frijol carita	-	0.79 – 0.84	Mtolo, 2017
Frijol cargamanto	Metanol	0.07	Chen, 2015
Garbanzo germinado	Metanol	1.33	Hithamani, 2014
Frijol mungo germinado	Metanol	2.70	Hithamani, 2014

Los compuestos fenólicos principalmente en cereales y legumbres, se agrupan en libres (también llamados solubles), conjugados y ligados (también llamados insolubles) (Cabrera-Soto, 2009). En el primer grupo están los fenoles libres, en el segundo grupo los glucosilados y esterificados que se ubican en mayor cantidad en las capas periféricas de los granos (Yu *et al.*, 2001). Se cree que en este grupo están fácilmente disponibles para la absorción en el intestino delgado (Gutierrez-Grijalva, 2015). Éstos se pueden convertir en un nuevo compuesto glucoronidado, sulfatado o metilado y son excretados en la orina y bilis (Singleton, 1981; Muñoz *et al.*, 2007).

El tercer grupo conformado por los compuestos fenólicos ligados, que es como se encuentran la mayoría de los fenoles en los alimentos, están unidos a través de interacciones covalentes con los glucósidos de la pared celular, formando enlaces éster que no son hidrolizados por las enzimas intestinales, por lo que no son absorbidos en el intestino delgado, limitando así su liberación en el colon donde serán metabolizados por la microbiota intestinal (Manach, 2004; Serrano *et al.*, 2009; Tomás-Barberan *et al.*, 2001; Spencer *et al.*, 2000; Holst y Williamson, 2008) (Figura 6). Por lo tanto, el objetivo de esta investigación es determinar la digestibilidad, bioaccesibilidad y capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos del garbanzo (*Cicer arietinum*) cocido en un modelo gastrointestinal *in vitro*.

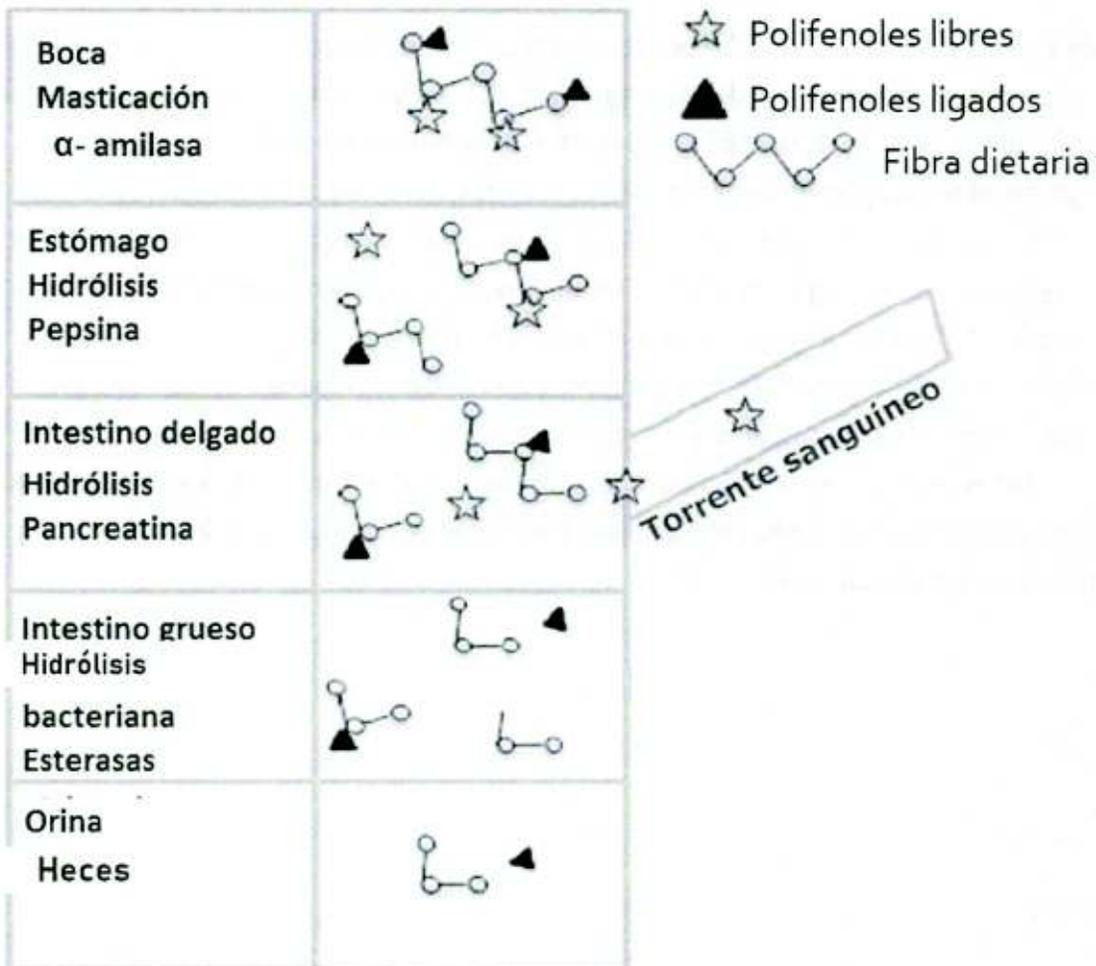


Figura 6. Liberación de compuestos fenólicos durante la digestión.

Imagen tomada de:

[https://www.researchgate.net/publication/289824074\\_INTERACCION\\_DE\\_COMPUESTOS\\_FENOLICOS\\_Y\\_FIBRA\\_DIETARIA\\_CAPACIDAD\\_ANTIOXIDANTE\\_Y\\_BIODISPONIBILIDAD](https://www.researchgate.net/publication/289824074_INTERACCION_DE_COMPUESTOS_FENOLICOS_Y_FIBRA_DIETARIA_CAPACIDAD_ANTIOXIDANTE_Y_BIODISPONIBILIDAD)

#### **IV. Justificación**

El garbanzo es una leguminosa muy poco valorizada, sin embargo, contiene compuestos fenólicos que pueden conferirle mayor valor agregado por los beneficios a la salud que estos compuestos pueden conferir, entre ellos la prevención de enfermedades crónico-degenerativas. Sin embargo, se tiene muy poca información del proceso que sufren los compuestos fenólicos del garbanzo cocido durante la digestión y la cantidad bioaccesible, así como también si realmente estos compuestos llegan a cumplir con su función principal dentro del organismo. Por lo tanto, la información que se obtendrá derivada de esta investigación puede ser muy útil, ya que cualquier transformación puede llegar a modificar su valor nutricional y la disponibilidad de los compuestos fenólicos para llegar a ser absorbidos y cumplir su función. Además, Sonora es uno de los principales estados productores de garbanzo del país gracias al tipo de clima que hay en este estado, favoreciendo el crecimiento del garbanzo y esto puede contribuir a la accesibilidad de este producto para los consumidores.

## V. Hipótesis

Los compuestos fenólicos del garbanzo cocido tienen mayor digestibilidad, bioaccesibilidad, y capacidad antioxidante determinado por un modelo gastrointestinal *in vitro*.

## VI. METODOLOGÍA

Para tener un panorama más amplio sobre los análisis de esta investigación, en la Figura 7 se muestra la metodología general utilizada.



Figura 7. Esquema general de la metodología a seguir en este proyecto de investigación.

### 6.1. Obtención de la muestra

El garbanzo fue obtenido del campo Covadonga (Longitud: -111.483, Latitud: 28.880, Altitud: 70 msnm ) cosecha 2017, el garbanzo es de variedad Blanoro tipo Kabuli S3.

### 6.2. Remojo de la muestra

El porcentaje de absorción de agua se basó en la metodología de Valdunciel-Pérez (2013), y Jacinto-Hernández (1993), donde se evaluó el peso de la semilla durante el proceso de remojo. El porcentaje de absorción de agua fue medido por la diferencia de peso de los granos de garbanzo seco y los granos de garbanzo puestos en remojo. Se tomaron 15 granos para cada tratamiento (0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 horas) con 65 mL de agua. Se determinó el

tiempo en donde el grano de garbanzo en remojo alcanzaba el máximo porcentaje de absorción de agua.

### **6.3. Cocimiento al vapor del garbanzo**

Después del remojo previo, las muestras se colocaron en una red de plástico en una bandeja dentro de una olla de vapor. Se cocieron sobre 1 L de agua hirviendo a vapor. Posteriormente se drenaron y se dejaron enfriar a temperatura ambiente. Toda la muestra se liofilizó, se molió en un molino Thomas-Wiley modelo 4 con una malla de 0.5 mm, la harina obtenida se almacenó a 4°C hasta su uso para caracterización fisicoquímica, contenido de fenoles y capacidad antioxidante que se describirán más adelante.

### **6.4. Caracterización fisicoquímica del garbanzo (análisis proximal)**

Se realizó el análisis proximal del garbanzo crudo y cocido de acuerdo a los métodos oficiales ya descritos por la AOAC (1997), aplicándose los siguientes análisis: Cenizas (método 923.03), residuo inorgánico resultante de la incineración a 550 °C hasta la pérdida total de la materia orgánica. Proteína cruda (método 954.01), por el método de Kjeldahl, donde se usó 6.25 como factor de conversión de nitrógeno a proteína. Grasa cruda (método 920.39), lípidos libres extraídos con éter de petróleo en un sistema Soxhlet. Fibra (método 985.29) Determinando fibra soluble e insoluble mediante el método enzimático gravimétrico. Carbohidratos: se determinó por diferencia

### **6.5. Determinación de otros parámetros de calidad: textura (dureza) y color.**

Con el fin de determinar parte de la calidad del garbanzo se determinó la textura (dureza) y el color. Se utilizó una celda chica de extrusión por alambres (CEA) adaptada al texturómetro Instron Universal modelo 4465 (Anduaga-Cota et al., 2002). Se midió la fuerza máxima necesaria para comprimir, compactar y extrudir muestra de garbanzo. Para la colección de los datos se utilizó una computadora con un programa serie IX, donde se obtuvo una gráfica que muestra la fuerza (kg/f) necesaria para que el grano pase a través del enrejado de la celda. Se realizó por cada tiempo de remojo medido por al menos quintuplicado. La textura fue reportada como Newtons/gramo, donde a mayor valor es más dura la muestra.

Respecto al color se realizó midiendo por el equipo HunterLab XWMini XE. Los resultados fueron reportados por: L (luminosidad, donde negro es 0% y blanco es 100%), a\* (donde +a\* es rojo y -a\* es verde), y b\* (donde +b\* es amarillo y -b\* es azul) (Escalante et al., 2014). El ensayo se realizó en base a diecisiete réplicas.

## 6.6. Extracción de compuestos fenólicos

### 6.6.1 Extracción de compuestos fenólicos libres

Los compuestos fenólicos fueron extraídos por el método descrito por Cabrera-Soto et al. (2009). Se tomaron 6 tubos Corning de 50 mL, a 3 de los tubos se les colocaron 15 g de harina de garbanzo cruda y a los otros 3 tubos restantes se depositaron 15 g de harina de garbanzo cocida. Posteriormente a cada tubo se le agregaron 30 mL de metanol al 80%. Se homogenizaron durante 1 hora a 100 rpm en una placa giratoria para después centrifugarlos a 4000 rpm, 15 min a 4 °C. Se extrajo el sobrenadante y se realizó una segunda extracción siguiendo el mismo procedimiento. Se mezclaron los dos sobrenadantes obtenidos y se filtraron en papel Whatman 4 para posteriormente concentrarlos en un rotavapor hasta llegar a un volumen final de aproximadamente 15 mL. Después se aforó a 20 mL con agua destilada y se realizaron 2 lavados con acetato de etilo a una proporción 1:1 v/v con la muestra. La fase con acetato de etilo se sometió a rotaevaporar para al final aforar a 2 mL con metanol. La fase acuosa se utilizó para la extracción de los compuestos fenólicos conjugados.

### 6.6.2 Extracción de compuestos fenólicos conjugados

Los compuestos fenólicos conjugados fueron obtenidos de la fase acuosa de los fenoles libres, se ajustó a un volumen de 20 mL y se aplicaron pulsos ultrasónicos con el equipo ultrasonicador a 40% de amplitud a 45 °C, sonicando 1 min y descansando 1 min hasta completar 1 hora de sonicación. Por último, se realizaron 2 lavados con acetato de etilo a proporción acetato/fase acuosa 1:1 v/v. Posteriormente la fase de acetato de etilo se llevó a concentrar en el rotavapor y se aforó a 2 mL de metanol (Figura 8) (Cabrera-Soto *et al.*, 2009).

### 6.6.3 Extracción de compuestos fenólicos ligados

Los compuestos fenólicos ligados fueron obtenidos del sedimento de los fenoles libres (Cabrera-Soto *et al.*, 2009). Se dejó secar el sedimento en campana por 10 horas dentro de un vaso de precipitado, para después mezclarlo con 30 mL de metanol. Se realizaron pulsos ultrasónicos con el equipo de sonicación a 40% de amplitud a 45 °C, aplicando 1 min de pulsos y

descansando 1 min hasta completar 1 hora de sonicación. Se realizaron 2 lavados con acetato de etilo 1:1 v/v por último se llevaron a rotavapor y se aforaron a 2 ml con metanol (Figura 8).



Figura 8. Esquema general de obtención de los extractos de los compuestos fenólicos libres, conjugados y ligados.

### 6.7. Determinación de fenoles totales

La cuantificación de fenoles totales se realizó por la técnica de Folin Ciocalteu (Prior *et al.*, 2005). Se tomaron 10  $\mu$ L de cada extracto y se agregaron 25  $\mu$ L de solución de Folin 1N. se dejó reposar durante 5 min en oscuridad y a temperatura ambiente. Posteriormente se adicionaron 25  $\mu$ L de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 20 % y 140  $\mu$ L de agua miliQ para llegar a un volumen final de 200  $\mu$ L. Se dejó reposar durante 30 min en oscuridad y se determinó la absorbancia a 760 nm. Se utilizó agua como blanco (control negativo) y metanol. Se realizó una curva con el estándar ácido gálico en metanol. Los resultados fueron expresados como miligramos de equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra (mg EAG/g muestra). Todas las mediciones se hicieron por triplicado.

El fundamento de la técnica estriba en que los compuestos fenólicos presentes se oxidan por el reactivo de Folin-Ciocalteu el cual se encuentra formado por la mezcla de ácido fosfotúngstico y ácido fosfomolibdico que se reduce por acción de los fenoles en una mezcla de

óxidos azules de tungsteno y de molibdeno en un medio básico de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . La coloración azul produce una absorbancia máxima de 750 nm. La reacción es de oxido-reducción en la cual el ión fenolato es oxidado bajo condiciones alcalinas mientras que el complejo fofomolibdico-fosfotúngstico en el que el reactivo de Folin se reduce y produce una solución coloreada de azul (Maya, 2009) (figura 9).

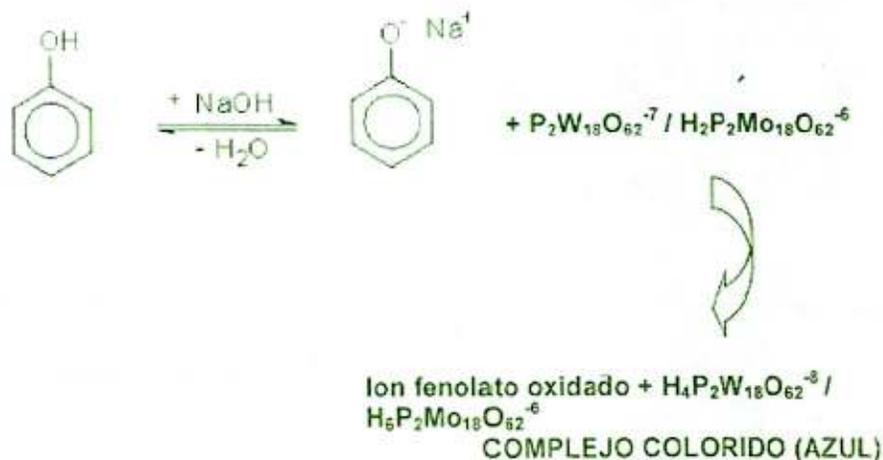


Figura 9. Reacción química reactivo de Folin-Ciocalteu.

## 6.8. Capacidad antioxidante

### 6.8.1. DPPH

Se preparó el radical DPPH a una concentración 0.022 mg/mL en metanol para posteriormente ajustarlo a una absorbancia de  $0.7 \pm 0.01$  en una longitud de onda de 515 nm. Una vez ajustado, se tomaron 200  $\mu\text{L}$  de radical DPPH y se agregaron 20  $\mu\text{L}$  de extracto en microplacas de 96 pozos. Se dejó reposar durante 30 minutos a temperatura ambiente protegidas de la luz. Posteriormente, se determinó la absorbancia a 515 nm en un lector de microplacas (Thermo Scientific) de 96 pocillos. Se realizó una curva con el estándar Trolox en metanol. Los resultados fueron expresados como micro moles de equivalente Trolox por gramo de muestra ( $\mu\text{mol ET/g}$  muestra). Todas las mediciones se hicieron por triplicado (Gutiérrez et al., 2008)

La técnica se fundamenta en el hecho de que el radical tiene un electrón desapareado y es de color azul-violeta, decolorándose hacia amarillo pálido por la reacción de la presencia de una

sustancia antioxidante, siendo medida espectrofotométricamente a 515 nm (Figura 10) (Ramos, 2008).

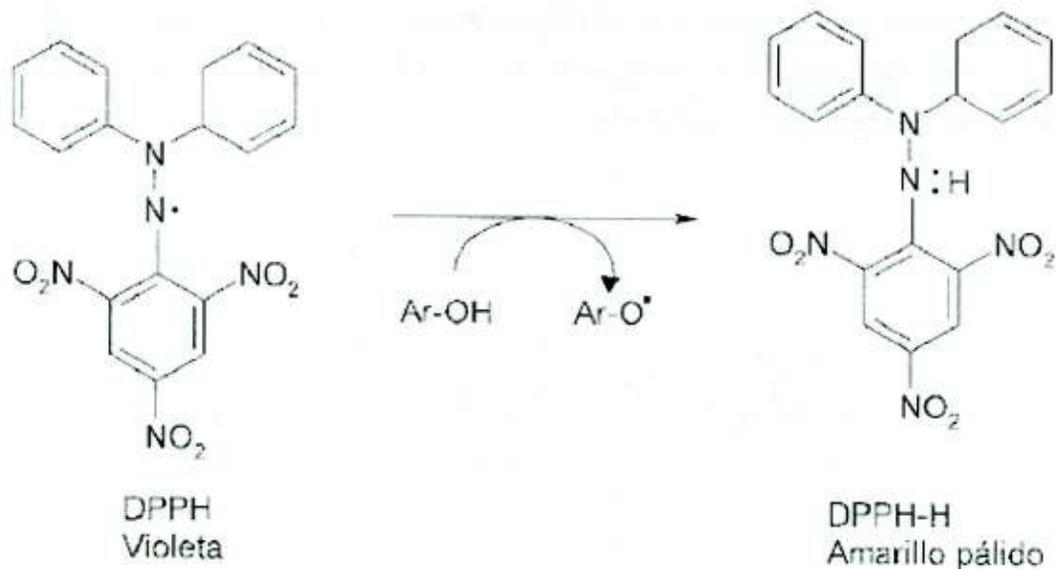


Figura10. Reacción del radical DPPH con un compuesto antioxidante

### 6.8.2 ABTS

Se pesaron 19.3 mg de ABTS y se disolvieron en 5 mL de agua destilada y se mezcló en vortex. En otro frasco se pesaron 0.0378 g de persulfato de potasio y se le agregó 1 mL de agua destilada. De la solución preparada con persulfato de potasio, se tomaron 88  $\mu$ L y se agregaron a la solución preparada con el radical ABTS. Se mezcló en vortex y se dejó reposar en oscuridad por aproximadamente 12-16 h a temperatura ambiente. Una vez concluido el tiempo de reposo se tomó 1 mL de la solución preparada y se adicionaron 88 mL de etanol. Se ajustó a una absorbancia de  $0.7 \pm 0.02$  en una longitud de onda de 734 nm.

Posteriormente, se tomaron 270  $\mu$ L de la solución del radical ABTS $\cdot^+$  y se le adicionaron 20  $\mu$ L de extracto. Se dejó reposar durante 30 minutos a temperatura ambiente en microplacas de 96 pozos protegidas de la luz. Posteriormente, se determinó la absorbancia a 734 nm en un lector de microplacas (Thermo Scientific). Se realizó una curva con el estándar Trolox en metanol. Los resultados fueron expresados como micro moles de equivalente trolox por gramo de muestra ( $\mu$ mol ET/g muestra). Todas las mediciones se hicieron por triplicado (Molyneux, 2004).

El método ABTS consiste en la generación del radical  $\text{ABTS}^{\bullet+}$ , por la reacción entre el ABTS y el persulfato de potasio para producir un color azul verdoso con absorbancias máximas a longitudes de onda de 415, 645, 734 y 815 nm. En presencia de compuestos antioxidantes se produce una disminución de la absorbancia del radical catiónico  $\text{ABTS}^{\bullet+}$ , ya que le es transferido un electrón por parte del antioxidante, por lo tanto de radical  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  (forma oxidada) pasa a su forma reducida ABTS (Maya, 2009) (figura 11).

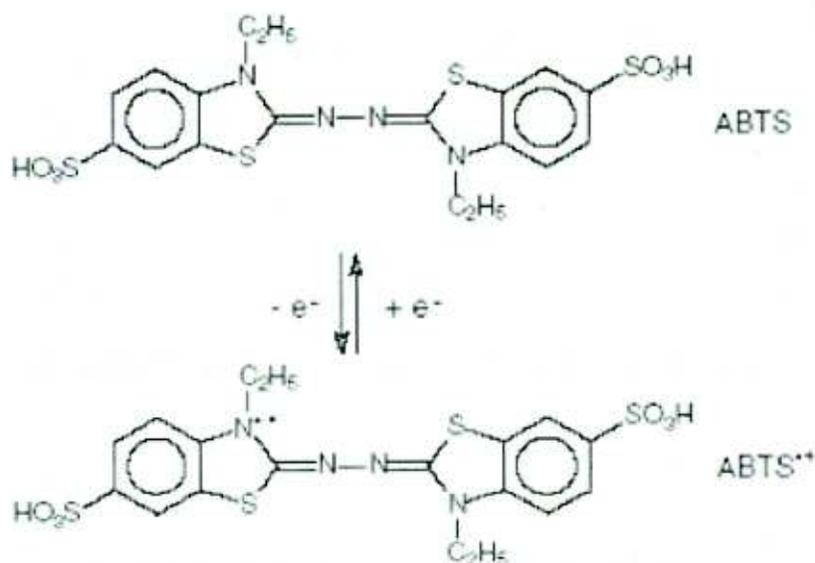


Figura 11. Generación del radical catiónico  $\text{ABTS}^{\bullet+}$

### 6.8.3 FRAP

Para la preparación del reactivo de FRAP se utilizó un regulador de acetato de sodio (4.92 g de acetato de sodio a un volumen final de 200 mL con agua mili Q ajustado a un pH 3.6 con HCl 6 M), a esta solución se adicionaron 5 mL de  $\text{FeCl}_3$  20 mM y 5 mL de TPTZ 10 mM en HCl 0.04 M. Se homogenizó muy bien para posteriormente tomar 280  $\mu\text{L}$  de la solución de FRAP y adicionar 20  $\mu\text{L}$  de extracto. Se dejó reposar durante 30 minutos a temperatura ambiente en microplacas de 96 pozos protegidas de la luz. Posteriormente, se determinó la absorbancia a los

30 minutos a 638 nm en un lector de microplacas (Thermo Scientific). Se realizó una curva con el estándar equivalente trolox en metanol. Los resultados fueron expresados como micro moles de equivalente trolox por gramo de extracto ( $\mu\text{mol ET/g extracto}$ ). Todas las mediciones se hicieron por triplicado (Benzie, 1996).

En el ensayo de FRAP la reacción mide la reducción del complejo férrico ( $\text{Fe}^{3+}$ -TPTZ) a ión ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ -TPTZ) causando una coloración azul intenso con una absorbancia máxima de 593 nm (Benzie, 1996) (figura 12).

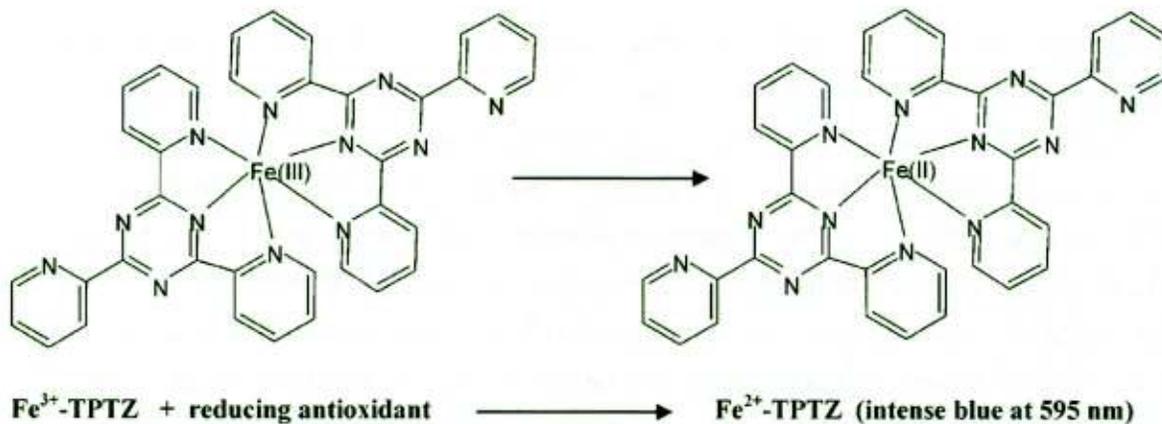


Figura 12. Reacción de FRAP

### 6.9. Determinación de la bioaccesibilidad y digestibilidad *in vitro*

Se realizó a través de un modelo gastrointestinal *in vitro*, el cual consistió en la exposición de la muestra a enzimas digestivas: amilasa, pepsina y pancreatina, evaluando el contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante según lo indica la metodología descrita por Van-Campen y Glahn (1999) y Tarko *et al.* (2009).

#### 6.9.1. Sistema de simulación *in vitro* del sistema gastrointestinal

Se seleccionó a un voluntario aparentemente sano, el cual se lavó los dientes con pasta dental y el último bocado que probó fue a 90 min antes de la prueba. Se le dieron 15 g de garbanzo cocido a masticar 15 veces durante 15 segundos. Se homogenizó con 10 mL de agua purificada. Posteriormente se acidificaron las muestras con HCl 6 M hasta llegar a pH 2. Se adicionaron 22.5 mL de pepsina (315 U/mL) (Sigma, P7012-5G) y 22.5 mL de agua destilada. La muestra se colocó en un shaker con baño maría a 80 rpm a 37° C durante 2 horas. Una vez transcurrido

este tiempo se neutralizaron las muestras a pH 7 con  $\text{NaHCO}_3$  1.25 M y se agregaron 5.625 mL de pancreatina (4 mg/mL) (Sigma, P1750-100G). Se homogenizó bien y las muestras se colocaron dentro de una membrana de diálisis (sigma D9888- 100FT 12,000 Dalton) previamente acondicionada (se cortaron 30 cm de membrana y se dejó en agua destilada durante 1 día). Ya con la muestra dentro se cerró la membrana y se instaló dentro de una probeta conteniendo 160 mL aproximadamente de buffer fosfato salino 1 M pH 7.4 (Sigma P-3813). Ya instalada la membrana y en la probeta se sometieron a baño maría con agitación a 80 rpm durante 4 horas a una temperatura de 37°C (figura 13).

Terminado el tiempo asignado, se liofilizó la fracción que se mantuvo dentro de la membrana y la muestra que se mantuvo en la probeta. Una vez liofilizadas las muestras se realizó la extracción de compuestos fenólicos libres, conjugados y ligados, por la misma metodología descrita en el apartado 6.5 de este trabajo. Para realizar las mediciones de capacidad antioxidante y fenoles totales por la metodología descrita en el apartado 8 y 7. La capacidad antioxidante y fenoles totales de la fracción de diálisis que pasó a través de la membrana fue estimada por diferencia. La fracción que pasó a través de la membrana simula el plasma de la sangre, que es la que lleva los principios activos a las células para su absorción, en tanto que la fracción que permaneció dentro de la membrana simula el intestino con los compuestos que no fueron absorbidos (Gil-Izquierdo *et al.*, 2002; McDougall *et al.*, 2005; Tarko *et al.*, 2009).



Figura 13. Simulación del sistema gastrointestinal *in vitro*

## **6.10. Análisis estadístico**

Se realizó estadística descriptiva, análisis de varianza unifactorial con comparaciones múltiples de Tukey a un nivel de significancia de 5% ( $p < 0.05$ ), utilizando el paquete estadístico Infostat (versión 2008). Los resultados fueron expresados como medias  $\pm$  desviación estándar de tres determinaciones.

## **VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **7.1. Análisis proximal**

El análisis proximal o de Weende es uno de los más conocidos y "probablemente sea el método más usado para expresar la calidad nutritiva global de un alimento". Con el progreso de la ciencia, en estudios nutricionales se necesita un enfoque más detallado acerca de los nutrientes. Sin embargo, el análisis proximal, con todos sus métodos originales, sigue constituyendo la base del análisis de alimentos con fines legislativos en muchos países (Greenfield y Southgate, 2003). Los resultados del análisis proximal tanto de garbanzo crudo como cocido se muestran en la Tabla 3.

El contenido de cenizas es una medida del total de minerales presentes en el alimento. Entre el garbanzo crudo y cocido el valor de cenizas mostró diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ). Después de la cocción se muestra una disminución debido, probablemente, a las pérdidas minerales por lixiviación en las aguas de remojo y cocción. Un comportamiento similar se obtuvo en el estudio de Marconi et al. (2000) en donde se muestran drásticas reducciones de cenizas (70%) en judías y garbanzos tras un tratamiento de cocción. Lo mismo sucedió en garbanzos de diferentes variedades en el estudio de Aguilera-Gutiérrez (2009). En general, el valor de cenizas para el garbanzo crudo se encuentra en un rango de 2.5 a 3.4% (Han, 2008; Heiras-Palazuelo et al., 2013; Herrera, 2014), por lo tanto el contenido de cenizas obtenidos en el presente estudio están dentro de este intervalo (2.8%).

Tabla 3. Análisis proximal en garbanzo crudo y cocido en base seca

Composición	Garbanzo Crudo (%)	Garbanzo Cocido (%)
Cenizas	2.80 <sup>a</sup> ± 0.47	1.75 <sup>b</sup> ± 0.04
Proteína	28.40 <sup>a</sup> ± 5.75	18.55 <sup>b</sup> ± 2.22
Grasas	6.23 <sup>a</sup> ± 0.07	5.35 <sup>b</sup> ± 0.08
Fibra total	7.41 <sup>a</sup> ± 0.97	7.20 <sup>a</sup> ± 0.82
Carbohidratos*	44.84 <sup>a</sup> ± 0.5	67.20 <sup>b</sup> ± 0.34

\*Los carbohidratos se calcularon por diferencia. Media ± Desviación estándar en base a tres réplicas. Letras diferentes en la misma fila indica que existe diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ).

Por otra parte, el mayor contenido proteico fue en el garbanzo crudo (28.4%), lo que pone de manifiesto el alto contenido de proteína de esta legumbre y su potencial como fuente alimenticia. Los reportes sobre la cantidad proteica en el garbanzo son muy variados, pues depende mucho la variedad del grano y las condiciones edafoclimáticas del cultivo entre otros factores. Por ejemplo, hay reportes desde 7.8% (Muy, 2011), 20.4% (FAO, 2008; Han, 2008), hasta 47.17-51.94% (Herrera, 2014). Sin embargo, respecto al contenido proteico del garbanzo cocido (18.55%), disminuyó después de la cocción, probablemente debido a un efecto de solubilización de las proteínas (albúminas, globulinas, prolaminas y glutelinas) en el agua (Pujolá et al., 2007). Este mismo efecto se observó en el estudio de Aguilera-Gutiérrez (2009) donde disminuyó la cantidad de proteína en garbanzo Castellano alrededor de 21.5%. Sin embargo, a pesar de esta disminución, la cantidad de proteína que quedó en el garbanzo cocido se sigue considerando alta en comparación con otras legumbres que en crudo presentan los mismos valores.

De acuerdo a los resultados de la Tabla 3, respecto a la cantidad de grasa también hubo diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre las muestras crudas (6.23%) y cocidas (5.35%), observándose un decremento posterior a la cocción. Según las referencias consultadas el intervalo de la cantidad de grasa en garbanzo crudo se encuentra de 3.1 a 6.2%. Chavan (1987) obtuvo 4.5 % en garbanzo tipo Kabuli, Han (2008) reportó 6.1% en la misma variedad, mientras Muy et al. (2011) 6.0%, Herrera (2014) reportó 5.7% para la variedad Costa 2004 y 5.6% para la

variedad Blanoro, y la FAO (2017) mostró 6.2 %. Son escasos los estudios reportados para garbanzo cocido, sin embargo existe el estudio de Aguilera-Gutiérrez (2009) en el cual no encontró diferencias significativas entre el garbanzo Sinaloa crudo y cocido (4.2%), pero si en el garbanzo Castellano mostrando mayor concentración de grasa en el cocido (3.8%) que en el crudo (3.1%). Por lo tanto, la cantidad de grasas de legumbres pueden ser importantes en la formación del complejo amilosa-lípidos y tener buen desempeño en la gelatinización del almidón durante la cocción, un fenómeno que tiende a limitar la biodisponibilidad del almidón (Silva et al., 2010).

Las legumbres presentan un alto contenido de fibra (grupo de polisacáridos) que se refiere fundamentalmente a los elementos fibrosos de la pared de la célula vegetal que no son aprovechados por el metabolismo, pero tienen efectos beneficiosos como en la intervención y regulación del metabolismo de carbohidratos y lípidos, además regula la función intestinal (Gil, 2010). Dentro de los resultados obtenidos, la cantidad de fibra del garbanzo crudo fue de 7.41% no habiendo diferencia significativa de su contenido después de la cocción. No hay muchos reportes de fibra en el garbanzo, existe un estudio por Chavan (1987) donde reportó un valor del 8% en garbanzo tipo kabuli, mientras que en el estudio de Polo-Chávez (2012) obtuvo un promedio de 4.62%, resultados más bajos que los obtenidos en nuestro estudio.

En general los carbohidratos son el grupo de componentes mayoritarios de las leguminosas-grano. Como la cantidad de carbohidratos se calculó por diferencia del resto de las determinaciones, el efecto de la disminución de algunos de los compuestos como proteínas, grasas y cenizas, provocó una mayor concentración de carbohidratos después de la cocción (67.2%) respecto al crudo (44.84%). Este mismo comportamiento se observó en el estudio de Aguilera-Gutiérrez (2009) en garbanzo Castellano cocido presentando 78.4% de carbohidratos a diferencia del garbanzo crudo (71.4%). Por lo tanto, se deberán realizar más análisis detallados de las fracciones que forman los carbohidratos totales (almidón, fibra y carbohidratos solubles), excepto fibra porque en nuestro estudio ya se realizó esta cuantificación. El rango de hidratos de carbono en garbanzo encontrado en las referencias es de 61 a 75%. Muhammad et al., (2013) reportaron 66.3%; Heiras-Palazuelo et al., (2013) obtuvieron valores alrededor del 69% en la variedad Blanco Sinaloa, la FAO (2017) reportó 61%, y Aguilera-Gutiérrez (2009) reportó un máximo de 75%. Todas estas cantidades fueron mayores a las reportadas en el presente estudio en el garbanzo crudo.

De acuerdo al proximal obtenido y en comparación con otras variedades estudiadas encontradas en la bibliografía, en el garbanzo crudo variedad Blanoro utilizada en nuestro estudio

se puede considerar un garbanzo de buena calidad nutricional, ya que es alto en proteína, fibra y grasa, con una cantidad total mineral aceptable para las legumbres. Con respecto al garbanzo cocido, a pesar de la disminución de algunos componentes como cenizas, proteína, y grasa, las cantidades finales después de la cocción siguen considerándose altas en comparación con otras variedades de garbanzo e incluso con legumbres que tienen la misma cantidad en forma cruda.

## 7.2. Otras determinaciones de calidad

### 7.2.1. Absorción de agua y determinación de dureza

El proceso de hidratación (remojo) de las legumbres es importante porque tiene varias funciones: a) Reduce el tiempo de cocción; b) Permite iniciar la actividad enzimática que las hace más digestivas y c) Es necesario para ablandarlas y que se puedan cocinar y comer sin problemas. Por lo tanto, la determinación de absorción de agua y la dureza durante el remojo es un indicador de cuándo es el tiempo óptimo en el que el grano absorbe la mayor cantidad de agua con menor dureza disminuyendo así el tiempo de cocción.

En la Figura 14 se muestra el porcentaje de absorción de agua y los valores de dureza (Newtons/g) durante el tiempo de remojo. Se observa que conforme pasa el tiempo la absorción de agua incrementa en el grano hasta que llega a la estabilidad a las 8 horas (53%) no presentando diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ ) a partir de este tiempo y hasta el final del remojo, mientras que en la dureza ocurre el efecto contrario, va disminuyendo hasta que se mantiene constante de forma proporcional al porcentaje de absorción de agua (8 h, 0.37 Newtons/g).

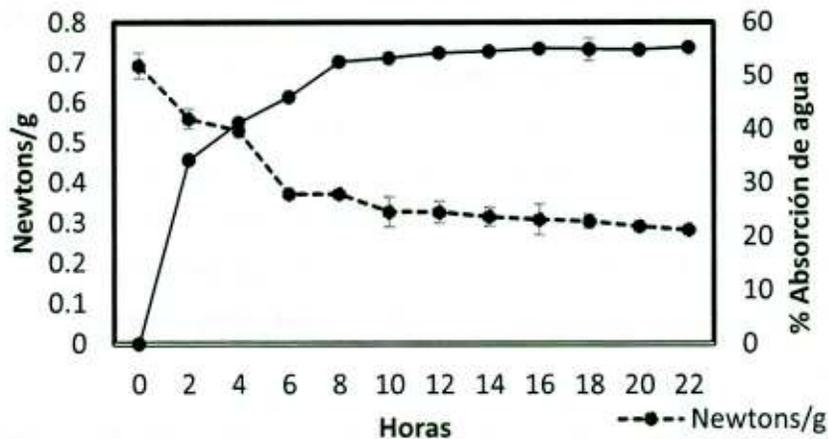


Figura 14. Absorción de agua (%) y dureza (Newtons/g) durante el remojo del garbanzo.

En el estudio de Romero-Baranzini *et al.* (2014) donde se estudiaron 8 variedades de garbanzo provenientes de Sinaloa y Sonora, obtuvieron un rango de tiempo de 2.7 a 6 horas para hidratar el 100% de los granos en estudio. Sin embargo, Favela (2017) reportó una absorción de agua del 99.53% durante 24 horas. En nuestro estudio la máxima cantidad de agua absorbida (55 %) fue a las 22 horas. En otras legumbres como el frijol azufrado, para hidratar el 90% de la semilla se requirió un tiempo de 8 horas (Barajas 2018). En cuanto a la dureza, el comportamiento fue similar al estudio de Romero-Baranzini *et al.* (2014) y de Álvarez *et al.*, (2015). Por lo tanto, el volumen y la velocidad de absorción de agua de la semilla depende de su tamaño, dureza y sobre todo de la permeabilidad de la cutícula. Los garbanzos con mayor cantidad de piel absorben mayor cantidad de agua en el remojo debido a que posiblemente existe una relación entre la temperatura durante la maduración y el desarrollo del tegumento. Las altas temperaturas pueden inducir mayor dureza en las semillas, debido a que se produce una deshidratación rápida de sus capas externas. La dureza del garbanzo tras la cocción, está correlacionada negativamente con el contenido de proteínas, esto quiere decir que el garbanzo es más tierno cuando su contenido de proteína es más alto (Lopez, 1996).

### 7.2.2. Color

Entre las varias características del garbanzo de alta calidad, el color es una de las más importantes, puesto que influencia la selección de nuevas variedades mejoradas en los centros de investigación experimentales, y también el precio en el mercado internacional (Romero *et al.*, 2010). Actualmente no existe una clasificación de los colores que representen al grano de garbanzo como referencia objetiva al momento de llevar a cabo la comercialización, ha sido hasta el momento por la percepción del consumidor. En la tabla 4 se muestran los resultados de color de garbanzo crudo y cocido. A manera de recordatorio, los resultados fueron reportados por: L\* (luminosidad, donde negro es 0 y blanco es 100), a\* (donde +a\* es rojo y -a\* es verde), y b\* (donde +b\* es amarillo y -b\* es azul).

**Tabla 4.** Determinación de color de garbanzo crudo y cocido

<b>Garbanzo</b>	<b>L*</b>	<b>a*</b>	<b>b*</b>
Crudo	60.44 <sup>a</sup> ± 3.50	6.98 <sup>b</sup> ± 0.40	17.74 <sup>b</sup> ± 1.25
Cocido	55.45 <sup>b</sup> ± 3.81	8.63 <sup>a</sup> ± 0.62	22.40 <sup>a</sup> ± 1.90

Media ± Desviación estándar en base a diecisiete réplicas. Letras diferentes en la misma columna son estadísticamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

El valor de luminosidad (L\*) fue levemente más alto en el garbanzo crudo (más claro) que en el garbanzo cocido, posiblemente el leve oscurecimiento de éste último fue debido a la oxidación provocada por el cocimiento de la muestra. En el diagrama de cromaticidad el valor de a\* fue un poco más alto en el garbanzo cocido que el crudo, eso significa que el valor tiene tonos más cercanos al rojo que el garbanzo crudo, por lo tanto el garbanzo cocinado es de color más intenso que el crudo, sin embargo el valor es muy bajo. Lo mismo ocurrió con el parámetro de b\* donde el garbanzo cocido tiene un valor mayor que el crudo, el cual corresponde a tonalidades más amarillentas que el garbanzo crudo (Gujska et al., 1991; Reyes et al., 2002; Hernandez et al., 2016). Existen dos tonalidades principales en los garbanzos, los blancos y los cafés. En el estudio de Romero et al. (2010) analizaron 6 tipos de garbanzo blanco y 4 de garbanzo café de la región Noroeste de México, presentando valores similares a los nuestros en las variedades estudiadas, sin embargo dentro de esas variedades estudiadas no estaba Blanoro, por lo que basándonos en los resultados obtenidos en esta investigación tienen alta luminosidad, con valores bajos de a\* y b\* indicando que nuestra muestra tiende a formar parte de la clasificación de garbanzo blanco.

### **7.3. Determinación de compuestos fenólicos totales**

El contenido de fenoles libres, conjugados y ligados de garbanzo crudo y cocido se muestran en la Tabla 5. Tanto en el garbanzo crudo como en el cocido, el orden de los tres tipos de compuestos fenólicos en cuanto a su cuantificación fueron similares: ligados > libres > conjugados. Posterior a la cocción se observó una disminución de aproximadamente 53, 33 y 22% de los compuestos fenólicos libres, conjugados y ligados respectivamente, indicando que los libres son más susceptibles a la temperatura. Probablemente en los conjugados y ligados al estar unidos a otras moléculas, el efecto de la temperatura es menor en comparación con aquellos

que están libres. Bajo este contexto, se ha comprobado que los compuestos fenólicos con mayor número de sustituyentes, principalmente hidroxílicos y los de menor número de sustituyentes metoxílicos son más fácilmente degradados por efecto de la temperatura (Liazid *et al.*, 2007).

En nuestro grupo de trabajo lograron identificar y cuantificar 8 diferentes compuestos de los extractos fenólicos del garbanzo en estudio (datos no publicados). Entre ellos resorcinol, ácido gálico, ácido cafeico, ácido siríngico, ácido clorogénico, quercetina, eugenol y kaempferol. El ácido cafeico fue el compuesto mayoritario para todos los extractos (libres, conjugados y ligados) seguido de resorcinol y kampferol. Además se observó que algunos compuestos fenólicos como eugenol y kampferol no se encuentran en los extractos cocidos y la quercetina no aparece en los extractos cocidos de conjugados y ligados. Por lo tanto, en los fenoles libres predominan compuestos fenólicos con varios sustituyentes hidroxílicos que consecuentemente fueron más susceptibles a la degradación térmica.

**Tabla 5.** Cuantificación de compuestos fenólicos totales de extractos crudos y cocidos de garbanzo

Extractos de Compuestos fenólicos	Crudo		Cocido	
	mg EAG/g	Proporción en %	mg EAG/g	Proporción en %
Libres	0.62 ± 0.01 <sup>Aa</sup>	23.84	0.29 ± 0.02 <sup>Ba</sup>	15.93
Conjugados	0.12 ± 0.01 <sup>Ab</sup>	4.62	0.08 ± 0.03 <sup>Aa</sup>	4.40
Ligados	1.86 ± 0.05 <sup>Ac</sup>	71.54	1.45 ± 0.03 <sup>Bb</sup>	79.67
Total	2.60 ± 0.04	100	1.82 ± 0.02	100

mg EAG/g: Miligramos de equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto.

Superíndices mayúsculas diferentes en la misma fila son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

Superíndices minúsculas diferentes en la misma columna son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

Media ± Desviación estándar en base a tres réplicas.

De acuerdo a Sreerama *et al.*, (2010), demostró que en la periferia del garbanzo (cascarilla o testa) se encuentra la mayor cantidad de compuestos fenólicos (aproximadamente 56%), siguiéndole el eje embrionario (33%) y finalmente el cotiledón (11%). Niño-Medina *et al.* (2017) reportó que en la cascarilla de garbanzo existe 1.61 mg EAC/g, sin embargo estos autores indican que la mayor proporción (94%) se encuentra en la fracción libre y no en la ligada, resultados

opuestos a los nuestros. Esto quizá puede deberse a la variedad del garbanzo y a la forma de extracción de los compuestos (Saura-Calixto 2007), que aunque la metodología fue muy similar, la única diferencia es que en nuestro estudio se realizó la extracción asistida por pulsos ultrasónicos por lo que pudo haber ejercido un efecto en la mayor liberación de los compuestos fenólicos ligados.

Comparando con otras leguminosas como el frijol, se han reportado valores de 0.144 mg EAG/g en fenoles libres, 0.073 mg EAG/g en fenoles conjugados y 0.157 mg EAG/g en fenoles ligados (Wang *et al.*, 2016), valores mas bajos que los obtenidos en nuestro estudio. Por otro lado, en el garbanzo cocido blanco Sinaloa 92 se reportó 0.72 mg EAG/g de compuestos fenólicos totales, cantidades menores a las de nuestro trabajo. Por lo tanto y a pesar de que hubo una disminución de los compuestos fenólicos después del cocimiento, se ha demostrado que estos compuestos son excelentes antioxidantes y que en su mayoría, se requiere de muy pocas cantidades para ejercer alguna actividad biológica como lo es la capacidad antioxidante.

#### **7.4. Determinación capacidad antioxidante**

Para la determinación de la capacidad antioxidante del garbanzo crudo y cocido se utilizaron tres tipos de radicales: DPPH, ABTS y FRAP.

##### **7.4.1. DPPH**

En la Tabla 6 se muestran los resultados obtenidos por el método de DPPH. Se puede observar una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en la capacidad de captación del radical DPPH entre el garbanzo crudo y cocido. Al igual que los compuestos fenólicos, la capacidad antioxidante se ve disminuida después del cocimiento aproximadamente 51% en los libres, conjugados y ligados. Hay escasa información sobre la extracción de estos tres tipos de extractos fenólicos obtenidos en el grano cocido, sin embargo para el crudo hay dos estudios en los que coinciden que los compuestos fenólicos ligados presentan la mayor capacidad antioxidante con este radical (Wang *et al.*, 2016; Niño-Medina, 2017).

Sin embargo la capacidad antioxidante no está relacionada proporcionalmente a la cantidad individual de los compuestos fenólicos, es decir, puede existir un compuesto en menor

proporción que otro y conferir la mayor capacidad antioxidante de la muestra. Los grupos hidroxilo, al estar unidos a un anillo bencénico como en el caso de los polifenoles, presentan la posibilidad de que el radical libre interaccione con los electrones del anillo, lo que les confiere las características especiales respecto al resto de los alcoholes. Por lo tanto dependerá de su estructura, en donde se ha comprobado que a mayor número de hidroxilaciones tenga la molécula mayor será su capacidad antioxidante (Perez-Perez *et al.*, 2018). Bajo este contexto, en la fracción ligada del garbanzo en estudio que es la que tiene la mayor capacidad antioxidante, tanto en crudo como en cocido contiene ácido cafeico, resorcinol, ácido gálico y ácido clorogénico (datos no publicados). Cada una de estas moléculas al menos tiene dos sustituyentes hidroxilo, lo cual los hace moléculas con buena capacidad antioxidante.

Tabla 6. Determinación de la capacidad antioxidante de extracto crudo y cocido de garbanzo por el radical DPPH

Extractos de Compuestos fenólicos	μmol ET/g muestra	
	Crudo	Cocido
Libres	23.72 ± 3.33 <sup>Aa</sup>	11.45 ± 3.33 <sup>Ba</sup>
Conjugados	28.23 ± 2.35 <sup>Aa</sup>	14.86 ± 1.81 <sup>Ba</sup>
Ligados	54.32 ± 0.43 <sup>Ab</sup>	26.38 ± 1.07 <sup>Bb</sup>

μmolET/g muestra: micro-moles de equivalentes Trolox por gramo de muestra.

Superíndices mayúsculas diferentes en la misma fila son significativamente diferentes (p<0.05)

Superíndices minúsculas diferentes en la misma columna son significativamente diferentes (p<0.05)

Media ± Desviación estándar en base a tres réplicas.

#### 7.4.2. ABTS

En la tabla 7 se muestran los resultados obtenidos de la capacidad antioxidante con el radical ABTS. Se puede observar el mismo comportamiento que con el radical DPPH en donde el garbanzo crudo presentó la mayor capacidad antioxidante que en el cocido en libres, conjugados y ligados, siendo los ligados quienes confirieron la mayor actividad. Sin embargo, después del cocimiento en la capacidad antioxidante con el radical ABTS, los fenoles libres y conjugados mostraron un decremento en promedio del 90%. En los fenoles ligados disminuyó 12.8%, menos que en el radical DPPH (51%).

Tabla 7. Determinación de capacidad antioxidante de extracto crudo y cocido de garbanzo por radical ABTS

Extractos de Compuestos fenólicos	µmol ET/g muestra	
	Crudo	Cocido
Libres	10.67 ± 3.03 <sup>Aa</sup>	0.55 ± 0.10 <sup>Ba</sup>
Conjugados	17.13 ± 1.04 <sup>Ab</sup>	2.28 ± 3.03 <sup>Ba</sup>
Ligados	34.44 ± 0.73 <sup>Ac</sup>	30.02 ± 0.54 <sup>Bb</sup>

µmol ET/g muestra: micro moles de equivalente trolox por gramo de muestra.

Superíndices mayúsculas diferentes en la misma fila son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

Superíndices minúsculas diferentes en la misma columna son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

Media ± Desviación estándar en base a tres replicas.

Ambos radicales están clasificados con el mismo mecanismo de acción, que es por transferencia de electrones (SET por sus siglas en inglés), sin embargo, las afinidades de los compuestos para cada uno de ellos difieren. Por ejemplo, el DPPH reacciona más con compuestos fenólicos pero no reacciona con flavonoides carentes de grupos hidroxilo en el anillo B y tampoco con ácidos aromáticos con un solo grupo hidroxilo (Von Gadov *et al.*, 1997; Yokozawa *et al.*, 1998). En tanto que ABTS reacciona con compuestos aromáticos hidroxilados independientemente que sean fenólicos o no (Prior *et al.*, 2005; Roginsky y Lissi, 2005). Por otra parte, con el ABTS se puede medir la actividad de compuestos de naturaleza hidrofílica y lipofílica (Krishnaiah *et al.*, 2011), mientras que el DPPH disuelto en metanol tiene mayor afinidad a los compuestos lipofílicos o de baja polaridad (Sharma y Bhat, 2009). Por lo tanto, de acuerdo a la naturaleza de los compuestos fenólicos que conforman al garbanzo, explica el comportamiento observado en ambos radicales.

En el estudio de Han (2008), en garbanzo crudo reportó para los compuestos fenólicos libres 2 µmol ET/g y para los ligados 0.5 µmol ET/g. Para el garbanzo cocido fueron 1.5 µmol ET/g para los libres y 0.3 µmol ET/g para los ligados. Niño-Mediana (2017) reporta 12.97 y 6.52 µmol ET/g en los extractos de compuestos fenólicos libres y ligados en garbanzo crudo. Estos resultados varían considerablemente con nuestro estudio, primeramente porque la muestra que más proporcionó capacidad antioxidante fue la de los ligados y en segunda en nuestro estudio fue mayor la capacidad antioxidante observada con el radical ABTS. Como se mencionó en el

punto anterior, el método de extracción pudo influir para estos resultados, ya que en nuestro estudio utilizamos pulsos ultrasónicos para la extracción de los compuestos fenólicos ligados, provocando así mayor liberación de ellos.

#### 7.4.3. FRAP

La capacidad antioxidante mediante el método de FRAP (*ferric reducing/antioxidant power*) consiste en la capacidad antioxidante de una muestra de acuerdo con su capacidad para reducir el hierro férrico ( $\text{Fe}^{+3}$ ) presente en un complejo con la 2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina (TPTZ) hasta la forma ferrosa ( $\text{Fe}^{+2}$ ). Esto da una idea de que tanto poder reductor tiene nuestra muestra, entre mayor poder reductor mayor es la capacidad antioxidante. En la tabla 8 se muestran los resultados obtenidos con esta técnica de extractos de garbanzo crudo y cocido. Se puede observar que el poder reductor se encuentra en un rango de 0.016 a 0.73  $\mu\text{mol ET/g}$  en el garbanzo crudo, resultados similares a los obtenidos por Segev *et al.*, (2010, 2011 y 2012).

Al igual que las técnicas antioxidantes anteriores, se observó una disminución del poder reductor por efecto de la temperatura en aproximadamente el 50% excepto en los compuestos fenólicos conjugados que no tuvieron diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ). El efecto de la temperatura en garbanzo en diferentes condiciones de cocimiento, horneado, asado y freído se ha estudiado por Segev *et al.*, (2011 y 2012) donde coinciden en una disminución en la actividad antioxidante por FRAP. Nuevamente los compuestos fenólicos ligados fueron los que presentaron mayor poder reductor.

Tabla 8. Determinación de capacidad antioxidante de extracto crudo y cocido de garbanzo por radical FRAP

Extractos de Compuestos fenólicos	μmol ET/g muestra	
	Crudo	Cocido
Libres	0.138 ± 0.004 <sup>ba</sup>	0.061 ± 0.004 <sup>bB</sup>
Conjugados	0.016 ± 0.001 <sup>ca</sup>	0.018 ± 0.002 <sup>ca</sup>
Ligados	0.729 ± 0.049 <sup>aA</sup>	0.311 ± 0.005 <sup>aB</sup>

μmol ET/g muestra: micro moles de equivalente trolox por gramo de muestra

Superíndices mayúsculas diferentes en la misma fila son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ )

Superíndices minúsculas diferentes en la misma columna son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ )

Media ± Desviación estándar en base a tres replicas

### 7.5. Sistema de simulación gastrointestinal *in vitro*

La determinación de la bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos en el garbanzo cocido se realizó en un modelo gastrointestinal *in vitro*, donde después de haber pasado el proceso del masticado y la exposición a las enzimas pepsina y pancreatina, se obtuvo una fracción dializada que representa el paso de los fenoles bioaccesibles a través del intestino, mientras que la fracción no dializada representa la muestra que no es digerida ni absorbida en el intestino delgado y pasa al colon en forma de heces fecales (Hithamani., 2014; Gil-Izquierdo *et al.*, 2002; McDougall *et al.*, 2005; Tarko *et al.*, 2009).

En la tabla 9 se puede apreciar el contenido de fenoles totales, donde los extractos libres, conjugados y ligados tienen diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre la fracción dializada y la no dializada. Se observan valores mayores en las fracciones dializadas frente a las No dializadas en los extractos libres y conjugados, lo cual quiere decir que existe mayor cantidad de compuestos fenólicos bioaccesibles debido a la influencia de las enzimas digestivas, y por lo tanto estos compuestos se encuentran biodisponibles. Por otro lado los fenoles ligados son los que están menos accesibles para ser absorbidos fácilmente por el intestino delgado, ya que como se mencionó anteriormente están unidos a la matriz alimentaria o a la pared celular por enlaces mas fuertes como los esteres. Generalmente, para este tipo de enlaces se requieren enzimas muy

específicas que no se encuentran en el organismo, por consiguiente, la microbiota juega un papel importante aquí, ya que se ha comprobado que la microbiota puede liberar este tipo de compuestos por las enzimas esterases que poseen (Perez-Perez *et al.*, 2018).

Tabla 9. Cuantificación de compuestos fenólicos en un sistema gastrointestinal *in vitro* en fracciones no dializadas y dializadas de extractos libres, conjugados y ligados de garbanzo cocido

Extractos de Compuestos fenólicos	Fracción	mg EAG/g muestra
LIBRES	Inicial	0.29 ± 0.02
	No dializada	0.07 ± 0.0 <sup>b</sup>
	Dializada	0.20 ± 0.2 <sup>a</sup>
CONJUGADOS	Inicial	0.08 ± 0.03
	No dializada	0.01 ± 0.3 <sup>n</sup>
	Dializada	0.06 ± 0.3 <sup>m</sup>
LIGADOS	Inicial	1.45 ± 0.03
	No dializada	0.99 ± 0.0 <sup>y</sup>
	Dializada	0.26 ± 0.1 <sup>z</sup>

mg EAG/g muestra: miligramos de equivalente de ácido gálico por gramo de muestra

Superíndices diferentes son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ )

Media ± Desviación estándar en base a tres réplicas

La presencia de compuestos fenólicos asociados a la fibra de la matriz alimentaria es una característica común en los alimentos vegetales. El complejo grupo de polisacáridos que forman a la fibra puede actuar atrapando los compuestos fenólicos o bien formando interacciones químicas con ellos. Los compuestos fenólicos poseen anillos aromáticos hidrofóbicos y grupos

hidroxilo hidrofílicos con la capacidad de enlazar polisacáridos y proteínas en la superficie de la pared celular, lo que puede restringir el tamaño de las moléculas. Estas interacciones también pueden depender de la porosidad específica y propiedades de la superficie. El tamaño de los poros de la pared celular puede variar de 4 a 10 nm de diámetro, que pueden restringir la penetración de los compuestos fenólicos con masas moleculares más grandes a 10 kDa (equivalente a 34 unidades de catequina) (Saura-Calixto, 2010; Quirós-Sauceda *et al.*, 2011). Por tal motivo, lo anterior pudiese explicar por qué la bioaccesibilidad de los compuestos ligados es menor que los libres de acuerdo a los resultados obtenidos.

Los estudios relacionados a la digestión *in vitro* de los compuestos fenólicos en garbanzo son muy escasos, solo se encontró el estudio de Hithamani (2014) en garbanzo germinado cocido en donde indican que para la fracción dializada se observó una cantidad de 1.33 mg EAG/g de fenoles totales, resultados similares a los nuestros. Sin embargo, se han reportado este tipo de estudios en legumbres como el frijol carita (0.84 mg EAG/g) (Mtolo, 2017) y el frijol cargamanto (0.28 mg EAG/g) (Chen, 2015).

Adicionalmente a los compuestos fenólicos, también se midió la capacidad antioxidante por los métodos DPPH, ABTS y FRAP, los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 10. La mayor capacidad antioxidante observada fue en la fracción dializada por parte de los extractos conjugados, mientras que en la no dializada fueron los compuestos ligados en los tres métodos analizados. La capacidad de ejercer el potencial antioxidante de los compuestos fenólicos va a depender de su bioaccesibilidad en el alimento y su biodisponibilidad en el tracto gastrointestinal (Saura-Calixto, 2010). Por lo tanto y de acuerdo a los resultados obtenidos, los fenoles ligados al no ser liberados de la matriz alimentaria por las enzimas digestivas, no son bioaccesibles, consecuentemente se encontró la mayor capacidad antioxidante en la parte no dializada, confirmando que se requiere la intervención de la microbiota intestinal para lograr liberar estos compuestos y poder ejercer su actividad biológica.

Estudios similares se han realizado con otras legumbres y cereales pero cuantificando la actividad antioxidante de los fenoles totales y no fraccionados (libres, conjugados y ligados), por ejemplo en frijol (Puerts *et al.*, 2016), arroz cocido y salvado de trigo (Perez, 2007). En todos estos estudios determinaron que al menos se mantiene el 70% de la capacidad antioxidante respecto a la inicial en la parte dializada (resultados similares a los nuestros) e incluso en algunos casos llega a aumentar debido a la bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos. Sin embargo, la cantidad de los fenoles ligados está subestimada en la mayoría de los alimentos, por lo que

esto podría ser un área de oportunidad para en estudios futuros tener la intervención completa de los compuestos fenólicos.

Tabla 10. Determinación de capacidad antioxidante en fracciones no dializadas y dializadas de extractos libres, conjugados y ligados de garbanzo cocido.

Extractos de Compuestos fenólicos	Fracción	μmol ET/g muestra		
		DPPH	ABTS	FRAP
<b>LIBRES</b>	Inicial	11.45 ± 3.33	0.55 ± 0.10	0.061 ± 0.004
	No dializada	7.73 <sup>A</sup> ± 0	5.74 <sup>B</sup> ± 0	0.07±0.01
	Dializada	9.08 ± 1.6	8.51 <sup>A</sup> ± 0.4	0.0±0.0
<b>CONJUGADOS</b>	Inicial	14.86 ± 1.81	2.28 ± 3.03	0.018 ± 0.002
	No dializada	0.08 ± 0.0	0.0 <sup>A</sup> ± 0.4	0.0 ±0.63
	Dializada	22.88 <sup>B</sup> ± 0	20.44 <sup>B</sup> ± 0.3	0.49 ±0.16
<b>LIGADOS</b>	Inicial	26.38 ± 1.07	30.02 ± 0.54	0.311 ± 0.005
	No dializada	33.34 <sup>A</sup> ± 0.4	32.19 <sup>A</sup> ± 1.6	0.89 ±0.02
	Dializada	0 <sup>B</sup> ± 2.3	5.05 <sup>B</sup> ± 1.6	0.0

μmolET/g muestra: micro moles de equivalente trolox por gramo de muestra

Superíndices mayúsculas diferentes en la misma fila son significativamente diferentes (p<0.05)

Superíndices minúsculas diferentes en la misma columna son significativamente diferentes (p<0.05)

Media ± Desviación estándar en base a tres replicas

## VIII. CONCLUSIONES

1. El garbanzo crudo y cocido variedad Blanoro se puede considerar un garbanzo blanco de buena calidad nutricional, ya que es alto en proteína, fibra y grasa, a pesar de que se observó disminución de algunos componentes después del cocimiento, las cantidades finales siguen considerándose altas en comparación con otras variedades de garbanzo e incluso con legumbres que tienen la misma cantidad en forma cruda.
2. Se logró determinar que la obtención de la fracción ligada de los compuestos fenólicos en el garbanzo requieren de métodos asistidos como los pulsos ultrasónicos para obtener mayor cantidad de ellos y estimar de forma más precisa la cantidad de fenoles totales.
3. La capacidad antioxidante y los compuestos fenólicos se vieron afectados por el cocimiento ocasionando una disminución de los mismos.
4. A pesar de que la fracción ligada presentó la mayor cantidad de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante antes de la digestión, se determinó en el sistema gastrointestinal *in vitro*, que requieren la intervención de la microbiota intestinal para liberarlos de la matriz alimentaria para hacerlos más bioaccesibles y biodisponibles, a diferencia de los conjugados que son bioaccesibles por las enzimas digestivas.

## IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Aguilera-Gutiérrez Y. (2009). Harinas de leguminosas deshidratadas: Caracterización nutricional y valoración de sus propiedades tecno-funcionales. Departamento de Química Agrícola, Universidad Autónoma de Madrid, España. Tesis Doctoral. [https://repositorio.uam.es/bitstream/handle/10486/4180/28400\\_aguilera\\_gutierrez\\_yolanda.pdf?sequence=1](https://repositorio.uam.es/bitstream/handle/10486/4180/28400_aguilera_gutierrez_yolanda.pdf?sequence=1).
- Aguilera Y., Dueñas M., Estrella I., Hernandez T., Benitez V., Esteban R. M., Martin-Carbejas M. A, phenolic and antioxidant capacity of chickpeas (*Cicer arietinum* L.) as affected by a dehydration process, *Plant foods hum nutr* (2011)66:187-195.
- Anduaga-Cota, R., Cota Gastélum, A.G., Falcón-Villa, M.R., YañezFarias, G.A. y Barrón-Hoyos J.M. (2002). *Mediciones de Dureza en Frijol Cocido con una Celda de Extrusión por Alambres: Propuesta de una Celda de Menor Tamaño*. IV Congreso del Noroeste en Ciencias Alimentarias y Biotecnología. UNISON, Hermosillo, Sonora, México.
- Antolovich, M., Prenzler, P., Robards, K., & Ryan, D. (2000). *Sample preparation in the determination of phenolic compounds in fruits*. *Analyst*, 125(5), 989-1009.
- AOAC. (1997). Official methods of analysis of AOAC International. 16th ed. Arlington: ASA-SSA
- Avello M., Suwalsky M. (2006) *radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección*, atenea 494, pp 161-172.
- Balde B.I. (2014). Aplicación de un modelo de digestión in vitro para el estudio de estabilidad de compuestos fenólicos de zumo y extracto de granada. Disertación de tesis de Licenciatura. Universidad de Lleida. España.
- Betanzo-Correa, J., Allen-Vercoe, E., McDonald, J., Schroeter, K., Corredig, M., Paliyath, G.(2014) *Stability and Biological Activity of Wild Blueberry (Vaccinium Angustifolium) Polyphenols During Simulated In Vitro Gastrointestinal Digestion*, *Food Chemistry*.1-27.
- Benzie I. F. F., Strain J. J. (1996) *the ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP Assay*, *analytical biochemistry*, 239, pp 70-76.
- Cabrera-Soto M. L., Salinas-Moreno Y., Velazquez-Cardelas G. A., Espinosa T. E., ( 2009) *contenido de fenoles solubles e insolubles en las estructuras del grano de maíz y su relación con propiedades físicas*, *agrocienca*, (43), pp 827-839.
- Cámara-Hurtado M., Sánchez-Mata M.C., Torija-Sasa M.E. (2003) *Frutas y Verduras, fuentes de salud*, Colección Nutrición y Salud, Grupo Elba, Madrid.
- Chavan J. K., Kadan S. S., Salunkle D. K., Beuchat L. R. (1987) *Biochemistry and technology of chickpea (cicer arietinum L.) seeds*, *CRC critical reviews in food science and nutrition*, 25 (2), pp 107-158.

- Chen P. X., Dupuis J. H., Marcone M. F., Pauls K. P., Liu R., Liu Q., Tang Y., Zhang B., Tsao R. (2015) physicochemical properties and in vitro digestibility of cooked regular and non-darkening cranberry beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and their effects on bioaccessibility, phenolic composition and antioxidant activity, *Journal of agricultural and food chemistry*.
- Clara M. Espeche, Oscar N. Vizgarra y L. Daniel Ploper. (2014). *Introducción y selección de líneas de garbanzo (Cicer arietinum L.) tipo Kabuli para ser difundidas como nuevos cultivares en zonas de producción del Noroeste Argentino*. Scielo, Tomo 91 (1), 11-17.
- Cork, S. J., & Krockenberger, A. K. (1991). *Methods and pitfalls of extracting condensed tannins and other phenolics from plants: Insights from investigations on Eucalyptus leaves*. *Journal of chemical ecology*, 17(1), 123-134.
- Davis, A.B. & Hosney, R.C. (1978). *Grain Sorghum Condensed Tannins. I. Isolation, Estimation and Selective Adsorption by Starch*. *Cereal Chem.* 56(4): 310-314.
- Denny A. y J. Buttriss. (2007). *Plant foods and health: Focus on plant bioactives*. *European Food Information Resource (EuroFIR) Consortium Funded under the EU 6th*.
- FAO. 2008. Comercialización y Exportación de Garbanzo. Disponible en: <http://www.fao.org>. (Fecha de acceso: 15 de Febrero del 2017).
- Favela-Gomez M. A., García-Armenta E., Reyes-Moreno C., Tiznado-Garzón J. A., Perales-Sanchez J. X. K., Caro-Corrales J. J., Gutierrez-Dorado E. (2017) *modelling of water absorption in chickpea (cicer arietinum L.) seeds grown in Mexico's northwest*, *revista mexicana de ingeniería química*, 16 (1), pp 179-191.
- Gaytán R.E. (2015). *Elaboración de Galletas con Alto Contenido Proteico a Base de Harina de Garbanzo (Cicer arietinum L.) (Tesis de pregrado)*. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Coahuila, México.
- Gil H. A., Ruiz L. M. (2010) *Tratado de nutrición*. Compuestos bioactivos de los alimentos de origen animal, Madrid España, pp 399-409.
- Gil-Izquierdo, A., Zafrilla, P., Tomás-Barberán, F. A. (2002). *An in vitro method to stimulate phenolic compound release from the food matrix in the gastrointestinal tract*. *European Food Research and Technology*. 214: 155-159.
- Gimeno C. E., (2004) *compuestos fenólicos un análisis de sus beneficios para la salud*, ámbito farmacéutico nutrición, 23 (6), pp 80-84.
- Greenfield H., Southgate D.A.T. (2003), *Bases de composición de alimentos*. Obtención, Gestión y Utilización, 2a edición, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma

- Grelida A; Farlas Y; Moreno VJG; Ma. del R. Falcon V. Barron HJM (1997). *Isolation and partial characterization of starches from dry beans (Phaseolus vulgaris L.) and chickpeas (Cicer arietinum L.) grown in Sonora, Mexico*. Starch. 49:341–345
- Gutiérrez, D. M., Ortiz, C. A. & Mendoza A. (2008). *Medición de Fenoles y Actividad Antioxidante en Malezas Usadas para Alimentación Animal*. En Simposio de Metrología 2008. Universidad Autónoma de Querétaro. Centro Nacional de Metrología. (SM2008-M220-1108-1).
- Gutierrez-Grijalva E. P., Ambriz-Perez D. L., Leyva-Lopez N., Castillo-Lopez R. I., Basillo H. J., ( 2015) *bioavailability of dietary phenolic compounds: review*, revista española de nutrición humana y dietética, 20 (2), pp 140-147.
- Hall J.E. (2011). *Text Book of Medical Physiology*. 12 ed. Saunders Elsevier: p. 773-793.
- Han H., Baik B. K. (2008) Antioxidant activity and phenolic content of lentils (*Lens culinaris*), chickpeas (*Cicer arietinum L.*), peas (*Pisum sativum L.*) and soybeans (*Glycine max*), and their quantitative changes during processing, *International Journal of Food Science and Technology* 2008, 43, 1971–1978.
- Heiras PMI; Ochoa L; Gutiérrez DR; López VJA; Mora RS; Milán CJ; Garzón TJ; Reyes MC (2013). Technological properties, antioxidant activity and total phenolic and flavonoid content of pigmented chickpea (*Cicer arietinum L.*) cultivars. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 64(1):69-76.
- Herrera F. T. S., Delgado A. A., Ramirez C. P., Licea de Anda E. M., Moreno C. M. G., Machuca C. C. P., (2014) *Estudio de la composición proximal de variedades de garbanzo (Cicer arietinum L.) costa 2004 y blanoro*, ciencia y tecnol. Agropec, México, 2 (2), pp 9-15.
- Hithamani G y 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*.
- Holst, B., & Williamson, G. (2008). *Nutrients and phytochemicals: from bioavailability to bioefficacy beyond antioxidants*. *Current opinion in biotechnology*, 19(2), 73-82.
- Jacinto-Hernández C., Campos-Escudero A.(1993). Efecto de la cocción sobre algunas características nutricionales del frijol. *Agronomía Mesoamericana*.4:42-47.
- Jukanti, A.K., Gaur, P.M., Gowda, C.L.L., y Chibbar R.N. (2012). *Nutritional quality and health benefits of chickpea (Cicer arietinum L.): a review*. *British Journal of Nutrition*, 108(S1), S11-S26.
- Kaur M., Singh NS. (2005). *Physicochemical, cooking, textural and roasting characteristics of chickpea (Cicer arietinum L.) cultivars*. *Journal of Food Engineering* 69:511–517.

- Krishnaiah D., Sarbatly R., Nithyanandam R. (2011). A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and Bioproducts Processing*. 89: 217–233.
- Lacalle A. (2007) *antioxidantes en alimentación: diferentes formas de expresar su actividad antioxidante. Tipos de unidades y métodos de análisis*, Barcelona.
- Liazid A., Plama M., Brigui J., Barroso C.G. 2007. Investigation on phenolic compounds stability during microwave-assisted extraction. *Journal of Chromatography A*. 1140: 29–34
- Lopez B. L. (1996) *nuevas técnicas para determinar la calidad de las legumbres*, resultados de los trabajos realizados en la universidad de cordoba sobre la influencia de suelo y clima en la calidad de garbanzos y lentejas.
- Maheri-Sis N., Chamani M., Ali-Asghar S., Mirza-Aghazadeh A., Aghajanzadeh-Golshani A. ( 2008) *Nutritional evaluation of kabulli and desi type chickpeas (Cicer arietinum L.) for ruminants using in vitro gas production technique*, *African Journal of Biotechnology*, 7(16), pp. 2946-2951.
- Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., Jiménez L. (2004) *polyphenols: food sources and bioavailability*, *Am J. clin nutr*, 79:727-47.
- Marconi, E.; Ruggeri, S.; Cappelloni, M.; Leonardi, D.; Carnovale, E. Physicochemical, nutritional, and microstructural characteristics of chickpeas (*Cicer arietinum L.*) and common beans (*Phaseolus vulgaris L.*) following microwave cooking. *J. Agric. Food Chem.* 2000, 48, 5986-5994.
- Maxsón, E.D., Rooney, L.W. (1972) *Evaluation of Methods for Tannin Analysis in Sorghum Grain*. *Cereal Chemistry*, 49, 719.
- McDougall G. J.; Dobson P.; Smith P.; Blake A., Stewart D. (2005). *Assessing Potential Bioavailability of Raspberry Anthocyanins Using an in Vitro Digestion System*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 5896-5904.
- Medina L. M. (2013) *Las legumbres como fuente de proteína* pp39-42.
- Molyneux P. 2004. The use of the stable radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science Technology*. 26(2): 211-219.
- Morales-Gómez, J.A., Durón-Noriega, L.J., Martínez-Díaz, G., Núñez-Moreno, J.H., y Fu-Castillo, A.A. (2004). *Cultivo de garbanzo blanco en Sonora. México*: INIFAP-SAGARPA
- Morales, G.J.A., Manjares, S.P. y Salinas, S.P. (2004). *Mejoramiento Genético y Variedades. Capítulo 4. El Cultivo de Garbanzo Blanco en Sonora*. Libro Técnico núm. 6, INIFAP, Hermosillo, Sonora.
- Muñoz J. A. M., Ramos E. F., (2007) *componentes fenólicos de la dieta y sus propiedades biomedicinales*, *horizonte medico*, 7 (1), pp 23-31.

- Muy R. M. D., Verdugo P. M., Osuna E., T., Baéz S. M. A., Basilio H. J., Valdez T., B., Contreras M. R., Sañudo B., J., A., Campos J. P., (2010) caracterización del garbanzo verde (*Cicer arietinum*) y tecnologías poscosecha para mantener su calidad, revista chapingo horticultura 17(1):39-45.
- Mtolo M., Gerrano A., Mellem J. (2017) effect of simulated gastrointestinal digestion on the phenolic compound content and in vitro antioxidant capacity of processed cowpea (*V. unguiculata*) cultivars, journal of food, vol. 15, No. 3, 391-399.
- Muzquiz, M. y Wood, J.A. (2007). *Nutritional and compositional study of desi chickpea (Cicer arietinum L.) cultivars grown in Punjab, Pakistan*. Food Chemistry, 105, 1357-1363.
- National Geographic society (2013). Sistema Digestivo. Disponible en: <http://www.nationalgeographic.es/ciencia/salud-y-cuerpo-humano/digestive-system-article>. (Fecha de acceso: 25 de Febrero del 2017).
- NIDDK (National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases). (2008). Disponible en: <https://www.niddk.nih.gov/health-information/informacion-de-la-salud/enfermedades-digestivas/aparato-digestivo-funcionamiento>. (Fecha de acceso: 26 de marzo del 2017).
- Niño-Medina G., Muy-Rangel D., Garza-Juárez A., Vázquez-Rodríguez J.A., Méndez-Zamora G., Urías-Orona V. (2017). Composición nutricional, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de cascarilla de garbanzo (*Cicer arietinum*). Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 67: 68-73.
- Parada J., Aguilera J. M. (2007) *food microstructure affects the bioavailability of several nutrients*, R:concise reviews and hypotheses in food science, 72 (2), pp 21-32.
- Peñarrieta J.M., Tejeda L., Mollinedo P., Vila J.L., Bravo J.A. (2014). Phenolic compounds in foods. Revista Boliviana de Química. 31(2): 68-81.
- Pérez J. J. (2007). *Efecto de fibra antioxidante de uva en status antioxidante y parámetros de riesgo cardiovascular en humanos*, tesis doctoral, instituto del frío (CSIC) departamento de metabolismo y nutrición.
- Perez-Perez L.M., García-Borbón L., González-Vega R.I., Rodríguez-Figueroa J.C., Rosas-Burgos E.C., Huerta-Ocampo J.A., Ruiz-Cruz S., Wong-Corral F.J., Borboa-Flores J., Rueda-Puente E.O., Del-Toro-Sánchez C.L. (2018). Liberación de compuestos enólicos ligados en el garbanzo (*Cicer arietinum* L.) utilizando microbiota humana intestinal. Biotecnia. 20(3): 146-154.
- 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, J am Diet Assoc, 108(6):1009-13.

- Polo-Chávez I.A. (2012). Determinación proximal de los principales componentes nutricionales de seis variedades de leguminosas: arveja, garbanzo, haba, lenteja, maní y soya. Disertación. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Quito, Ecuador.
- Puertas M. M. A., Mosquera-Mosquera N., Rojano B. (2016) estudio de la capacidad antioxidante in vitro de *Phaseolus vulgaris* L. (frijol) mediante extracción asistida por microondas, revista cubana de plantas medicinales, 21 (1):42-50
- Price, R. K., Welch, R. W., Lee-Manion, A. M., Bradbury, I., & Strain, J. J. (2008). *Total phenolics and antioxidant potential in plasma and urine of humans after consumption of wheat bran*. Cereal Chemistry, 85(2), 152-157.
- Prior R.L., Wu X., Schaich K. 2005. Standardized Methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 53: 4290-4302.
- Quirós-Sauceda A.E., Palafox H., Robles-Sánchez R.M., González-Aguilar G.A. 2011. Interacción de compuestos fenólicos y fibra dietaria: capacidad antioxidante y biodisponibilidad. Biotecnia. 18(3): 3-11.
- Ravi, R. (2005). *Rheology of chickpea (Cicer arietinum L.) flour suspensions and characterisations of fried product-Boondi*. Tesis doctoral. Universidad de Mysore, India.
- Robins, R. J. (2003). Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Methodology. Agricultural Food Chemistry, 51, 2866-2887.
- Roginsky V., Lissi E.A. (2005). Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. Food Chemistry. 92(2): 235-254.
- Romero B., A., Falcón V.M. Barrón H.J. Silveira G.M., Alfaro R.R. 2010. Evaluación de color del garbanzo (*Cicer arietinum* L.) por métodos instrumentales y sensoriales. Revista Mexicana de Agronegocios. 27: 323-335.
- Romero-Baranzini A. L., Barrón-Hoyos J. M., Falcón-Villa M. R., Anduaga-Cota R. (2014). *Evaluación de la calidad comercial y tecnológica de variedades y líneas avanzadas de garbanzo (Cicer arietinum L.) cosechadas en el noroeste de México*, Biotecnia. 16 (1), pp 7-14.
- SAGARPA (2017). Garbanzo, una importante fuente de proteína. Disponible en: <http://www.gob.mx/sagarpa/articulos/garbanzo-una-importante-fuente-de-proteina>. (Fecha de acceso: 17 de Marzo del 2017).
- Saleem A. H. M., Riaz A., Hamed \_Y. S., Abdin M., Chen G., Wang P, Zeng X. (2018) *production and characterization of CMC-based antioxidant and antimicrobial films enriched with chickpea hull polysaccharides*, international journal of biological macromolecules, 469-477.

- Saura-Calixto F. (2010). *Dietary Fiber as a Carrier of Dietary Antioxidants: An Essential Physiological Function*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 59(1):43-49.
- Segev, A., H. Badani, Y. Kapulnik, I. Shomer, M. Oren-Shamir and S. Galili. (2010), Determination of Polyphenols, Flavonoids and Antioxidant Capacity in Colored Chickpea (*Cicer arietinum* L.), *Journal of Food Science*, 75 (2), pp. S115-S119.
- Segev A., Badani H., Galili L., Hovav R., Kapulnik Y., Shomer I., Galili S. (2011). Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) as Affected by Soaking and Cooking Conditions. *Food and Nutrition Sciences*. 2: 724-730.
- Segev A., Badani H., Galili L., Hovav R., Kapulnik Y., Shomer I., Galili S. (2012). Effects of Baking, Roasting and Frying on Total Polyphenols and Antioxidant Activity in Colored Chickpea Seeds. *Food and Nutrition Sciences*. 3: 369-376.
- Serrano, J., Puupponen-Pimiä, R., Dauer, A., Aura, A. -, & Saura-Calixto, F. (2009). *Tannins: Current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects*. *Molecular Nutrition and Food Research*, 53(SUPPL. 2), 310-329.
- SIAP. Servicio de información Agroalimentaria y Pesquera. 2017. Servicio de información Agroalimentaria y Pesquera, SAGARPA, México. Disponible en: [http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com\\_content&view=article&id=10&Itemid=15](http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=10&Itemid=15)
- Sharma O.P., Bhat T.K. 2009. DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chemistry*. 113: 1202–1205.
- Silva CL; Osorio DP; Tovar J; Bello PLA (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.
- Singleton, V. L. (1981). *Naturally occurring food toxicants: phenolic substances of plant origin common in foods*. *Advances in Food Research*, 27, 149-242.
- Soobrattee M., V. Neergheen, A. Luximon-Ramma, O. Aruoma y T. Bahorun. (2005). *Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: mechanism and actions*. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 579(1-2):200-213.
- Spencer, J. P. E., Chaudry, F., Pannala, A. S., Srai, S. K., Debnam, E., & Rice-Evans, C. (2000). *Decomposition of cocoa procyanidins in the gastric milieu*. *Biochemical and biophysical research communications*, 272(1), 236-241.
- Sreerama Y.N., Neelam D.A., Sashikala V.B., Pratape V.M. (2010). Distribution of Nutrients and Antinutrients in Milled Fractions of Chickpea and Horse Gram: Seed Coat Phenolics and Their Distinct Modes of Enzyme Inhibition. *J. Agric. Food Chem*. 2010, 58, 4322–4330.

- Tarko, T., DudaChodak, A., Sroka, P., Satora, P., Michalik, J., (2009). *Tranformations of Phenolic Compounds in an in vitro Model Simulating the Human Alimentary Tract*. Food Technology and Biotechnology. 47(4): 456-463.
- Tomás-Barberán, F. A., Gil, M. I., Cremin, P., Waterhouse, A. L., Hess-Pierce, B., & Kader, A. A. (2001). *HPLC - DAD - ESIMS analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches, and plums*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49(10), 4748-4760.
- Tsimidou, M. (1998). *Polyphenols and quality of virgin olive oil in retrospect*. Ital J Food Sci, 2, 99-116.
- Valdunciel Perez J.M.(2013) Métodos de valoración de garbanzo. Instituto de investigación y tecnología agraria y alimentaria.
- Van-Campen, D. R., Glahn, R. P., (1999). *Micronutrientes técnicas de biodisponibilidad. La precision, los problemas y limitaciones*. Cultivos de campo. 60(1-2): 93-113.
- Von Gadov A., Joubert E., Hansmann C. F. (1997). Comparison of the antioxidant activity of aspalathin with that of other plant phenols of Roobies tea (*Aspalathus linearis*),  $\alpha$ -tocopherol, BHT, and BHA. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 45(1): 632–638.
- Wang, Y.W., Zhang X., Chen G. L., Yu J. Yang L. Q., Gao Y-Q. (2016) antioxidant property and their free, soluble conjugate and insoluble-bound phenolic contents in selected beans, journal of functional food 24(2016) 359-372.
- Williams PC., Singh U. (1987). *Nutritional quality and the evaluation of quality in breeding programme*. In: Chickpea CAB International, Wallingford Oxon UK. pp 329–356.
- Yokozawa T., Chen C.P., Dong E., Tanaka T., Nonaka G.-I., Nishioka I. Study on the inhibitory effect of tannins and flavonoids against the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Biochemical Pharmacology*.. 56(2): 213–222.
- Yu J., Vasanthan T., Temelli F. (2001) *analysis of phenolic acids in barley by high-performance liquid chromatography*, J. agric. Food chem, 49, pp 4352-4358.
- Xu B J.,Chang K.C. S. 2007. A comparative study on phenolic profiles and antioxidante activities of legumes as affected by extraction solvents. Journal of food science. 72 (2): 159-166.
- Xu B., Chang S. K. C. (2008) Effect of soaking, boiling, and steaming on total phenolic content and antioxidant activities of cool season food legumes, food chemistry 110 (2008) 1-13.