

UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

Departamento de Ciencias Químico Biológicas

“Efecto de la temperatura y atmósferas modificadas sobre la capacidad antioxidante del garbanzo (*Cicer arietinum*) cocido durante su almacenamiento”

TESIS PROFESIONAL PRÁCTICA

Como requisito para obtener el título de:

QUÍMICO EN ALIMENTOS

Presenta:

Ana Lucía González Soto

Hermosillo, Sonora

Diciembre de 2018

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 Ana Lucia González Soto la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el Título de Químico en Alimentos.

Dra. Carmen Lizette Del toro Sánchez
Presidente

Dra. Maritza Lizeth Álvarez Ainza
Secretario

Dr. Francisco Javier Wong Corral
Vocal

M.C. María Guadalupe Cañez Carrasco
Suplente

AGRADECIMIENTOS

Principalmente le agradezco a Dios por la vida que me dió, por estar a mi lado guiándome paso a paso, por ser mi fortaleza en todas las etapas de mi vida, ayudándome a levantarme en cada tropiezo y seguir adelante a lo largo de mi vida, gracias a ti estoy donde debo estar y he logrado lo que me he propuesto.

A la UNIVERSIDAD DE SONORA por abrirme las puertas de sus instalaciones siendo como un segundo hogar para mí, por ser orgullosamente BÚHO, le doy gracias por el aprendizaje, por la experiencia que me brindó a lo largo de mi carrera y sobre todo por mi formación como profesionista.

Le doy gracias a mis padres Oscar Fco. González Durazo y Elisa Soto Valenzuela principalmente por darme la vida, por brindarme siempre su apoyo incondicional, su amor y los valores que me han inculcado, por estar siempre a mi lado alentándome y apoyándome en las decisiones que he tomado y sobre todo por darme la oportunidad de tener una excelente educación en el transcurso de mi vida, esto jamás hubiera sido posible sin ustedes, MIS LOGROS SIEMPRE SERÁN SUS LOGROS.

A mis hermanas Tania, Luisa y Fernanda por ser parte importante en mi vida, por el apoyo que me han brindado y la alegría que siempre han inyectado en mí, no me pudo haber tocado mejor compañía, por soportar mis horas de desvelo, y por siempre estar al pendiente de mí y de mi formación, gracias por todo esto.

De todo corazón a la Dra. Carmen Lizette Del toro Sánchez, a la futura Dra. Liliana Maribel Pérez Pérez por ser una familia para mí, por su paciencia, su cariño y todo el apoyo y los empujones que me dieron, al Dr. Francisco Javier Wong, Dra. Maritza Lizeth Álvarez y la M.C María Guadalupe Cañez que me han brindado sus enseñanzas, experiencias y apoyo en todos los sentidos, parte fundamental y piezas claves para la realización de este trabajo, sin su colaboración no hubiera sido posible.

A todo el equipo de ANTIOXIDANTES, por estar siempre ahí conmigo dispuestos a ayudar y compartir sus conocimientos conmigo.

Y finalmente a todo el personal docente que formó parte de mí formación académica, a la M.C. María Guadalupe Cañez, a la Dra. Abril Z. Graciano, M.C César Otero, M.C Socorro Herrera, Mtra. Rosalina Ramírez y a todos los profesores, mil gracias por sus consejos y aprendizaje, sin duda alguna la mejor etapa de mi vida.

CONTENIDO

	Pág
APROBACIÓN.....	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
LISTA DE FIGURAS	6
LISTA DE TABLAS	7
RESUMEN.....	8
INTRODUCCIÓN	9
ANTECEDENTES	11
GENERALIDADES SOBRE EL GARBANZO.....	11
Origen y distribución geográfica del Cultivo de Garbanzo.....	11
Descripción taxonómica del garbanzo (<i>Cicer arietinum L.</i>).....	12
Producción de garbanzo (<i>Cicer arietinum L.</i>).....	13
Propiedades nutricionales del garbanzo (<i>Cícer arietinum L.</i>).....	14
Importancia de los antioxidantes en alimentos.....	16
Antioxidante.....	17
Radicales Libres.....	17
Compuestos fenólicos.....	18
Estructura Química y Clasificación de los compuestos fenólicos.....	19
Compuestos fenólicos en el garbanzo.....	21
Atmósferas modificadas.....	22
Justificación.....	26
Hipótesis.....	27
Objetivos.....	28
Objetivo general.....	28
Objetivos específicos.....	28

Metodología.....	29
Obtención de la muestra vegetal	29
Preparación de las muestras	29
Almacenamiento en atmósferas modificadas	30
Obtención de la harina de garbanzo.....	30
Determinación de Análisis Químico Proximal.....	30
Extracción de compuestos fenólicos	30
Extracción de fenoles libres	31
Extracción de fenoles solubles conjugados	31
Extracción de fenoles insolubles ligados	31
Determinación de contenido de fenoles	31
Determinación de la capacidad antioxidante.....	32
Método ABTS.....	32
Método DPPH.....	32
Análisis estadístico.....	33
RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	34
Análisis químico proximal del grano de garbanzo.....	34
Almacenamiento en Atmósferas Modificadas	37
Cuantificación de fenoles libres, conjugados y ligados del garbanzo.....	40
Cuantificación de la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos libres, conjugados y ligados del garbanzo cocido almacenado en diferentes atmósferas modificadas.....	43
CONCLUSIONES.....	49
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50

LISTA DE FIGURAS

Figura	Título	Pág
1	Descripción taxonómica y botánica del cultivo de garbanzo (<i>Cicer arietinum</i> L.).....	12
2	Tipos de Garbanzo.....	13
3	Estructura general y ejemplos de compuestos fenólicos del tipo flavonoide.....	20
4	Ejemplos de compuestos fenólicos del tipo no flavonides.....	21
5	Esquema General del Trabajo Experimental.....	29
6	Almacenamiento de garbanzo en atmósferas modificadas a los 25 días.....	38
7	Almacenamiento de garbanzo en atmósferas modificadas a los 50 días.....	38
8	Comparación en la medición de la concentración de los gases en muestras de garbanzo cocido y almacenado al Día 0 (Control) y al Día 50.....	39
9	Comportamiento de los fenoles libres del garbanzo durante el almacenamiento con AM.....	42
10	Comportamiento de los fenoles conjugados del garbanzo durante el almacenamiento con AM.....	42
11	Comportamiento de los fenoles ligados del garbanzo durante el almacenamiento con AM.....	43
12	Capacidad antioxidante por ABTS para extractos de fenoles libres en atmósferas modificadas.....	44
13	Capacidad antioxidante ABTS para extractos de fenoles conjugados en atmósferas modificadas.....	44
14	Capacidad antioxidante ABTS para extractos de fenoles ligados en atmósferas modificadas.....	45
15	Capacidad antioxidante DPPH para extractos de fenoles libres en atmósferas modificadas.....	46
16	Capacidad antioxidante DPPH para extractos de fenoles conjugados en atmósferas modificadas.....	46
17	Capacidad antioxidante DPPH para extractos de fenoles ligados en atmósferas modificadas.....	47

LISTA DE TABLAS

Tabla	Título	Pág.
1	Principales estados productores de garbanzo con su producción anual del año 2016 y 2017.....	14
2	Principales micronutrientes que forman parte del garbanzo tipo kabuli (mg/100 g de grano seco).....	15
3	Contenido de compuesto bioactivos en granos de garbanzo.....	16
4	Condiciones de almacenamiento en atmósferas controladas de algunos productos.....	24
5	Análisis químico proximal inicial realizado en garbanzo crudo y cocido.....	34
6	Análisis químico proximal en harina de garbanzo cocido (HGC) en día 0 y harina de garbanzo almacenado (HGA) a -20 °C, en atmósfera de N ₂ al día 50.....	36
7	Contenido de fenoles en harina de garbanzo cocido y crudo sin tratamiento.....	41

RESUMEN

El garbanzo (*Cícer arietinum*) es una legumbre que contiene alto contenido de compuestos fenólicos los cuales ayudan a prevenir enfermedades crónico-degenerativas (cáncer, diabetes, enfermedades cardiovasculares, etc.) debido a que tienen capacidad antioxidante. Sin embargo, estos compuestos son susceptibles a la degradación y a la oxidación durante el almacenamiento del garbanzo una vez que ha sido cocinado. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la temperatura y el uso de atmósferas modificadas sobre la capacidad antioxidante del garbanzo cocido durante su almacenamiento. Muestras de garbanzo se almacenaron bajo atmósferas modificadas con la inyección de diferentes gases (N_2 , CO_2 y aire) en bolsas de polipropileno y se almacenaron a diferentes temperaturas (-20, 4, 25 y 50 °C) durante 50 días. Se monitoreó la concentración de los gases en el interior de las bolsas a los 0, 25 y 50 días. Adicionalmente, a cada uno de estos muestreos se cuantificaron los fenoles libres, conjugados y ligados por Folin Ciocalteu, así como también se determinó la capacidad antioxidante por ABTS y DPPH. Dentro de los resultados obtenidos se observó un aumento en la concentración de CO_2 en las muestras, sobre todo a 25 y 50 °C. Por otra parte, la capacidad antioxidante tanto en fenoles libres, conjugados y ligados se conservaron mejor a -20 °C en atmósfera de N_2 logrando mantener aproximadamente 88-98% de estos compuestos. Los compuestos fenólicos ligados del garbanzo se encuentran en mayor cantidad (1.6 mg EAG/g) y también tienen la mayor capacidad antioxidante en DPPH (55% de inhibición) y ABTS (90% de inhibición), secundando los compuestos fenólicos libres y conjugados. Por lo tanto, las atmósferas modificadas son una excelente herramienta para conservar la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos del garbanzo cocido al menos durante 50 días de almacenamiento.

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas la demanda del consumidor con respecto a los alimentos ha cambiado considerablemente, ya que cada vez busca productos que contribuyan directamente a su salud. En este sentido se ha planteado el aprovechamiento de las legumbres de mayor consumo, tales como frijol (*Phaseolus vulgaris*), soya (*Glicine max*), lenteja (*Lens esculenta*), chícharo (*Pisum sativum*) y garbanzo (*Cicer arietinum*). Existe una variedad de estudios sobre el uso de las legumbres, sin embargo, con respecto al garbanzo, hay poca información de su aprovechamiento. El garbanzo es una legumbre de gran importancia comercial y ha sido consumido por sus propiedades nutricionales (Aguilar-Raymundo y col., 2013).

La semilla del garbanzo es buena fuente de energía, proteínas, algunas vitaminas (tiamina, niacina, ácido ascórbico) y minerales (Ca, O, P, Fe, Mg, K) (Rubio y col., 1998). Esta legumbre contiene componentes que no son nutritivos, pero desempeñan funciones metabólicas benéficas para la salud, tales como alcaloides, oligosacáridos, isoflavonas y compuestos fenólicos. Generalmente las legumbres presentan mayor cantidad de compuestos fenólicos que los cereales (<1%) (Aguilar-Raymundo y col., 2013).

Se ha reportado que los compuestos fenólicos suelen presentar múltiples efectos biológicos, incluyendo actividad antioxidante. Los extractos crudos de materiales vegetales ricos en esta clase de compuestos son cada vez más estudiados en la industria alimentaria ya que retardan la degradación oxidativa de los lípidos y así mejoran la calidad y el valor nutricional de los alimentos. La importancia de los componentes antioxidantes contenidos en los materiales vegetales se ve reflejado en la protección del organismo contra ciertas enfermedades sobre todo las crónico-degenerativas. 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).

La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos se debe principalmente a sus propiedades REDOX, las cuales les permiten actuar como agentes reductores y donadores de hidrógeno (Rice-Evans y col., 1995). En los alimentos el proceso de oxidación y generación de la rancidez sobre todo durante el almacenamiento es causado por radicales libres como consecuencia de la peroxidación lipídica y en los sistemas vivos los radicales libres atacan moléculas biológicas claves, produciendo enfermedades degenerativas (Suja y col., 2004). 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, sin embargo, cuando existe un exceso de estos radicales es indispensable neutralizarlos y, los compuestos que mejor lo hacen son los antioxidantes (Avello y Sulasky , 2006).

En la mayoría de legumbres el manejo y almacenamiento a temperatura superior a 25 °C, con una humedad relativa mayor a 65%, causa su endurecimiento lo que reduce su valor nutricional, incrementa el tiempo de cocción, y deteriora las características sensoriales (Reyes-Moreno y col., 2002). Por lo tanto, la industria de alimentos tanto frescos como procesados ha buscado continuamente alternativas para incrementar la vida de anaquel de los productos, ya que durante el almacenamiento la calidad disminuye y como consecuencia hay pérdida de humedad y daños fisiológicos (Raghavan y col., 2003). Por lo que en este trabajo de investigación el objetivo fué determinar el efecto de la temperatura y atmósferas modificadas sobre la capacidad antioxidante del garbanzo cocido durante su almacenamiento.

ANTECEDENTES

Generalidades Sobre El Garbanzo

Dentro de los problemas más importantes al que nos enfrentamos los seres humanos en la actualidad son la malnutrición y los problemas de hambre, siendo la insuficiencia en el consumo de alimentos con alta calidad nutricional uno de los más severos (Ritika y col., 2016). En la actualidad existen diversas alternativas para abordar los problemas nutricionales que causan enfermedades degenerativas en nuestro organismo, para poder cubrir las necesidades de nuestro cuerpo, se necesita una dieta adecuada y equilibrada la cual debe incluir carbohidratos, lípidos, fibra, proteínas, vitaminas y minerales.

Las leguminosas de granos representan una fuente de proteína relativamente económica, lo cual es viable para los países en desarrollo y su contenido en proteína es casi el doble que la mayoría de los cereales. El valor alimenticio de las legumbres es alto, presentan el mismo valor calórico por unidad de peso que los cereales, siendo importantes como complemento de carbohidratos, además son buena fuente de vitaminas y minerales. De las diversas legumbres, la soya, el cacahuate, el chícharo, el garbanzo y la lenteja, son las más cultivadas en todo el mundo, las semillas de estas plantas son comúnmente consumidas y la mayoría de ellas pueden ser almacenadas económicamente para su uso posterior (Salunkhe y Kadam, 1989). El garbanzo es una de las principales fuentes de alimentación humana y animal y constituye uno de los principales cultivos de leguminosas (Alonso y col., 2010).

Origen y distribución geográfica del cultivo de garbanzo

El garbanzo es una especie cuyas variedades proceden de una amplia zona que abarca desde la India hasta la cuenca Mediterránea. Vavilov (1926) estudió los centros de origen del cultivo de garbanzo definiendo dos centros primarios, el suroeste de Asia y la cuenca Mediterránea y un centro secundario, Etiopía (De Miguel-Gordillo, 1991).

Sin embargo, los informes más antiguos que nos hablan sobre la utilización del garbanzo datan desde el año 5450 A.C. (Jericó). Conforme transcurrió el tiempo se fue estudiando un poco el origen e historia de este cultivo, encontrándose también en India en el año 2000 A.C. (De Miguel-Gordillo, 1991).

En países como Egipto, Grecia y Roma, el garbanzo era la fuente de alimentos más consumidos por personas de clase baja; mientras que los sacerdotes y estudiantes tenían prohibido el consumo de garbanzo debido a que se creía que perdían el pensamiento y la riqueza espiritual, todo esto fue observado cuando Ateneo, Pitágoras y otros maestros prohibían a sus alumnos comer y pasear cerca de algún campo sembrado con leguminosas (De Miguel-Gordillo, 1991).

Algunos estudios indican que los primeros habitantes en introducir el cultivo de garbanzo en América Central y Sudamérica fueron los españoles y portugueses, quienes encontraron las condiciones ambientales favorables para su desarrollo fisiológico, sobre todo en México donde llega a constituir uno de los alimentos de gran importancia (De Miguel-Gordillo, 1991).

Descripción taxonómica del garbanzo (*Cicer arietinum* L.)

El garbanzo (*Cicer arietinum* L.) es un cultivo anual y herbáceo que pertenece a la familia Leguminosae. En cuanto a su descripción taxonómica (figura 1), este cultivo posee raíces profundas, tallos erectos y vellosos que pueden llegar a alcanzar una altura de hasta 0.60 m. Las hojas son de forma pari o imparipinnadas, folíolos de borde dentado, los racimos florales presentan de 1 a 5 flores donde raras veces llegan a tener 2 flores con una longitud de 5 a 50 mm, frutos en vaina bivalva con una o dos semillas en su interior ligeramente arrugadas con dos grandes cotiledones (Morales-Gómez y col., 2004; Valencia, 2009; Frimpong, 2010).

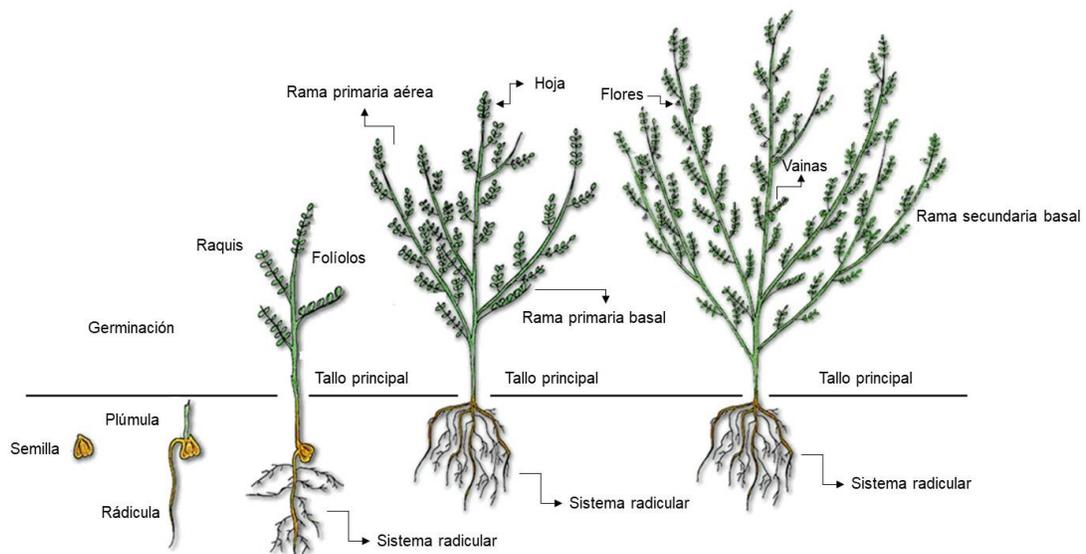


Figura 1. Descripción taxonómica y botánica del cultivo de Garbanzo (*Cicer arietinum* L.)

Existen dos tipos de garbanzo, el Kabuli y el Desi (figura 2), los cuales presentan características morfológicas diferentes en donde el kabuli forma vainas relativamente largas, sus semillas son grandes, menos arrugadas, de color blanco o crema, mientras que el garbanzo tipo desi son semillas pequeñas de color marrón que contienen una capa áspera con una angularidad pronunciada y la superficie fuertemente estriada. La cubierta de la semilla de tipo desi es considerablemente más gruesa que la de los tipos kabuli pero en ambos tipos hay buena adherencia del recubrimiento de la semilla y de los cotiledones (Ravi, 2005; Jukanti y col., 2012).



Figura 2. Tipos de garbanzo. A) Tipo desi, B) Tipo kabuli
(Fuente: Aguilar-Raymundo y Vélez-Ruiz, 2013)

Producción de garbanzo (*Cicer arietinum* L.)

Producción Mundial. Su área de cultivo comprende zonas situadas entre los 15" y los 40" de latitud norte, sometida a muy diferentes regímenes termo y foto periódicos, principalmente se cultiva en invierno en la India, Etiopía y Sudamérica y en primavera en la región mediterránea, siendo en general un cultivo de temporal, aunque se riega el 10% de la superficie total cultivada (SAGARPA, 2017).

Producción nacional. Según el informe de SAGARPA (2017) en la actualidad la producción de garbanzo a nivel nacional, el Estado de Sonora y Sinaloa producen casi el 80.0 % del garbanzo en el país. Su participación en la producción del grano es de 30.7 y 46.6 % respectivamente. Sonora alcanzó un incremento de 57.3 % al obtener 56, 353 toneladas respecto a las 35,824 producidas en el año 2016. A nivel nacional se cosecharon 183, 576 toneladas de garbanzo grano 55.7% más que las 117, 880 ton producidas en al año 2016 (tabla 1).

Tabla 1. Principales estados productores de Garbanzo con su producción anual del año 2016 y 2017

ESTADO	2016 (ton)	2017 (ton)	VARIACIÓN (%)
Sinaloa	51,601	85,487	65.7
Sonora	35,824	56,353	57.3
Michoacán	17,771	22,964	29.2
Baja California Sur	4,041	7,374	82.5
Guanajuato	5,827	7,359	26.3
Jalisco	2,135	2,322	8.8
Nacional	117, 880	183, 576	55.7

Fuente: SAGARPA, 2017

Propiedades nutricionales del garbanzo (*Cícer Arietinum* L.)

El garbanzo es utilizado en la alimentación humana por un gran porcentaje de la población mundial. Su fruto es una fuente potencial de carbohidratos y proteínas, tanto que representan alrededor del 80% del peso seco total del grano, siendo una legumbre con mayor contenido de oligosacáridos (62% de los azúcares totales) (Jukanti y col., 2012; Muhammad y col., 2013). El garbanzo tipo kabuli presenta mayor contenido de polisacáridos con respecto al garbanzo tipo desi (Frimpong, 2010). Diversos autores han reportado el contenido de almidón en la semilla de garbanzo que es de aproximadamente 525 g/kg base seca y aproximadamente el 35% del almidón total se considera almidón resistente (almidón que resiste la digestión intestinal), el resto es el almidón disponible (Topping y Clifton, 2001).

El contenido de proteína en el garbanzo varía significativamente cuando se considera la masa total del grano seco (17-22%) y cuando es descascarado, el cual tiende a incrementar (25.3-28.9%). El garbanzo tiene una proteína de mejor calidad en comparación con otras legumbres tales como el frijol negro (*Vigna mungo* L.), judía mungo (*Vigna radiata* L.) y frijol rojo (*Cajanus cajan* L.) (Aguilar-Raymundo y Vélez-Ruiz, 2013)

Respecto al contenido de lípidos en los dos tipos de garbanzo desi y kabuli, estos valores oscilan entre 2.9-7.4% y 3.4-8.8%, respectivamente. El contenido total de lípidos en el garbanzo comprende principalmente ácidos grasos poliinsaturados (62-67%), ácidos grasos mono-

insaturados (19-26%) y grasas saturadas (12-14%). Su contenido vitamínico comprende vitaminas hidrosolubles y liposolubles en donde destacan la riboflavina (vitamina B2), la niacina (vitamina B3), la vitamina B6 y la vitamina E (Wood y Grusak, 2007; Jukanti y col., 2012). Contiene también alta concentración de carotenoides como el β -caroteno (49 mg/100 g), el cual es precursor de la vitamina A. Adicionalmente contiene carotenoides que no tienen actividad de vitamina A como la luteína y la zeaxantina. Por otro lado, el grano de garbanzo aporta alrededor del 40% de manganeso y cobre y el 15% de hierro y zinc variando las concentraciones dependiendo del tipo de garbanzo consumido, además aporta diferentes micronutrientes (tabla 2) de gran importancia en el bienestar humano (Muhammad y col., 2013).

Tabla 2. Principales micronutrientes que forman parte del garbanzo tipo kabuli (mg/100 g de grano seco)

Mineral	Cantidad mínima	Cantidad máxima
Calcio	40	267
Magnesio	10	239
Fósforo	159	930
Potasio	220	1,333
Sodio	2	646
Azufre	160	200
Hierro	3	14
Manganeso	0	9
Cobalto	6	41
Zinc	62	5
Selenio	1	10

Fuente: Wood y Grusak, 2007

Las legumbres también contienen compuestos que no son nutritivos, pero que tienen la responsabilidad de realizar funciones metabólicas benéficas para la salud en donde destacan los alcaloides, isoflavonas, compuestos fenólicos y una gran variedad de oligosacáridos (tabla 3). Generalmente las leguminosas presentan mayor cantidad de compuestos fenólicos que los cereales (<1%) considerados altamente antioxidantes (ácidos hidroxicinámicos, flavonoles, antocianinas y proantocianinas, entre otros). Éstos ayudan en la prevención de enfermedades crónicas de tipo cardiovascular, así como enfermedades cancerígenas y diabetes (Willet, 1994). El garbanzo tipo desi tiene mayor concentración de compuestos fenólicos (0.84–6.00 mg/g) con

respecto al tipo kabuli (0.02– 2.20 mg/g) los cuales están relacionados directamente con la coloración del grano (Muzquiz y Wood, 2007).

Tabla 3. Contenido de compuesto bioactivos en granos de garbanzo

Compuesto Bioactivo	Presencia	Actividad biológica
Oligosacáridos	***	Prebióticos, Flatulencias
Fitatos	***	Reducción índice glucémico
Polifenoles	**	Capacidad antioxidante
Isoflavonas	*	Fitoestrógenos, control metabólico
Lectinas	*	Antitumoral, inhibe el crecimiento

**** muy abundante, *** abundante, ** bajo y *muy bajo
(Fuente: Aguilar-Raymundo y Vélez-Ruiz, 2013)

Importancia De Los Antioxidantes En Alimentos

Las tendencias mundiales en la nutrición y alimentación indican un interés acentuado hacia el consumo de leguminosas, por su valor nutritivo y por sus beneficios a las funciones del organismo humano. Estas tendencias en los patrones de alimentación han generado un área nueva de investigación y desarrollo en nutrición y tecnología de alimentos, la de los llamados “alimentos funcionales”, definidos como cualquier alimento en forma natural o procesada, que además de sus componentes nutritivos contienen sustancias que favorecen la salud, la capacidad física y el estado mental de una persona (Konigsberg y Aguilar, 2008). Entre estos compuestos funcionales destacan los antioxidantes exógenos, los cuales interactúan de forma segura con los radicales libres y ponen fin a su reacción en cadena antes de que dañen moléculas vitales (Oroian y Escriche, 2015).

El daño oxidativo causado por los radicales libres está directamente relacionado con la aparición de distintas enfermedades (cáncer, cardiovasculares, artritis, etc.) en donde el papel de los compuestos fenólicos como antioxidantes juega un papel muy importante debido a que estas sustancias son capaces de secuestrar radicales libres (Atmani y col., 2011). Los compuestos polifenólicos son los antioxidantes más abundantes en la dieta y poseen estructuras con anillos aromáticos y dobles enlaces conjugados lo que les permite ejercer dicha capacidad antioxidante (Harasym y Oledzki, 2014).

El contenido de compuestos antioxidantes en productos vegetales, así como su capacidad antioxidante puede verse afectada por diferentes acciones tales como los procesos de maduración, las condiciones de conservación, el proceso de almacenamiento, entre otros (Pérez-Jiménez y col., 2007).

Antioxidante

Un antioxidante es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas. Según el modo de acción de los antioxidantes es posible diferenciarlos en primarios (debido a que actúan interrumpiendo la reacción en cadena que producen los radicales libres generando como consecuencia de ello un radical libre menos activo) y los antioxidantes secundarios (poseen acción preventiva y actúan atrapando los iones metálicos que producen la descomposición del peróxido de hidrógeno, generando como consecuencia de ello el radical hidroxilo) los cuales permiten la estabilización del sistema (Pastene , 2009). Los antioxidantes retrasan el proceso de envejecimiento combatiendo la degeneración y muerte de las células que provocan los radicales libres (Chiselli y col., 1995). Los compuestos considerados potentes antioxidantes son los compuestos fenólicos, de los cuales se hablará más adelante.

Radicales Libres

Son radicales libres los átomos carentes de un electrón sin par, condición que hace a los átomos reactivos e inestables. La incapacidad del cuerpo humano para neutralizar a los radicales libres a los que está expuesto diariamente, obliga al hombre a recurrir a alimentos con las propiedades antioxidantes con capacidad de neutralizarlos (Chiselli y col., 1995).

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 gran daño a moléculas, membranas celulares y tejidos. Los radicales libres no son intrínsecamente deletéreos; de hecho, nuestro propio cuerpo los produce en cantidades moderadas para luchar contra bacterias y virus (Finkel y Holbrook, 2000). Estas acciones se dan constantemente en las células de nuestro cuerpo, proceso que debe ser controlado con una adecuada protección antioxidante (Finkel y Holbrook, 2000).

El problema para la salud se produce cuando nuestro organismo tiene que soportar un exceso de radicales libres durante años, producidos mayormente por contaminantes externos, que provienen principalmente de la contaminación atmosférica y el humo de cigarrillos, los que producen distintos tipos de radicales libres en nuestro organismo (Finkel y Holbrook, 2000). El consumo de aceites vegetales hidrogenados tales como la margarina y el consumo de ácidos grasos trans como los de las grasas de la carne y de la leche también contribuyen al aumento de los radicales libres (Finkel y Holbrook, 2000).

Especies reactivas del oxígeno (ERO) es el término que se aplica colectivamente a las moléculas radicales y no radicales que son agentes oxidantes y/o son fácilmente convertidos a radicales. Cuando el aumento del contenido intracelular de ERO sobrepasa las defensas antioxidantes de la célula se produce el estrés oxidativo, a través del cual se induce daño a moléculas biológicas como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos (Halliwell y Gutteridge, 2015). El estrés oxidativo se presenta en diversos estados patológicos en los cuales se altera la funcionalidad celular, contribuyendo o retroalimentando el desarrollo de enfermedades degenerativas como la aterosclerosis, cardiomiopatías, enfermedades neurológicas y cáncer (Halliwell y Gutteridge, 2015).

La capacidad antioxidante celular está dada por mecanismos a través de los cuales la célula anula la reactividad y/o inhibe la generación de radicales libres (Thornalley y Vasak, 1985; Greenwald, 1990; Palamanda y Kehrer, 1992; citado por Avello. y Suwalsky, 2006). Estos mecanismos son adecuados a la muy corta vida media de los radicales libres y comprenden moléculas pequeñas, endógenas y exógenas con capacidad antioxidante como por ejemplo los compuestos fenólicos (Thornalley y Vasak, 1985; Greenwald, 1990; Palamanda y Kehrer, 1992 citado por Avello y Suwalsky, 2006).

Compuestos Fenólicos

Los compuestos fenólicos o polifenoles constituyen un amplio grupo de sustancias químicas, considerados metabolitos secundarios de las plantas, con diferentes estructuras químicas y actividad englobando más de 8000 compuestos distintos (López y col., 2018). Su forma más frecuente es la de polímeros o lignina insoluble, mientras que su presencia en los tejidos animales está relacionada con el consumo e ingestión de alimentos vegetales (Martínez y Periago, 2000).

Sus principales funciones en las células vegetales son las de actuar como metabolitos esenciales para el crecimiento y reproducción de las plantas, y como agentes protectores frente a la acción de patógenos, siendo secretados como mecanismo de defensa. La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos tiene interés desde un punto de vista tecnológico y nutricional. Así, los compuestos fenólicos intervienen como antioxidantes naturales de los alimentos, por lo que la obtención y preparación de alimentos con un alto contenido en estos compuestos supone una reducción en la utilización de aditivos antioxidantes, a la vez que se obtienen alimentos más saludables, que incluso pueden llegar a englobarse dentro de los alimentos funcionales. Desde un punto de vista nutricional, esta actividad antioxidante se asocia con su papel protector en las enfermedades cardiovasculares y en el cáncer así como en procesos de envejecimiento por lo que está siendo intensamente estudiado mediante ensayos "*in vivo*" e "*in vitro*" (Berra y col., 1995; Posada y col., 2003).

Estructura química y clasificación de los compuestos fenólicos

Químicamente, los compuestos fenólicos son sustancias químicas que poseen un anillo aromático, un anillo benceno, con uno o más grupos hidroxilos incluyendo derivados funcionales (ésteres, metil ésteres, glucósidos, etc.) (Martínez y Periago, 2000). La naturaleza de los polifenoles varía desde moléculas simples como los ácidos fenólicos 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 hidroxilos, aunque en algunos casos se pueden producir uniones directas entre una molécula de azúcar y un carbono aromático. Por ello la forma más común de encontrarlos en la naturaleza es en forma de glucósidos, siendo solubles en agua y solventes orgánicos (Martínez y Periago, 2000). Pueden clasificarse de muchas maneras ya que tienen gran diversidad estructural, pero según su estructura química se puede dividir en dos grandes grupos:

- a) Flavonoides: Formados por 2 grupos bencénicos (C₆-C₃-C₆) unidos por un puente tricarbonado (figura 3) 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 (C6, C6-C1, C6-C3) y Ácidos fenólicos (derivados del ácido benzoico y derivados del ácido cinámico) (figura 4).

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 y col., 2014).

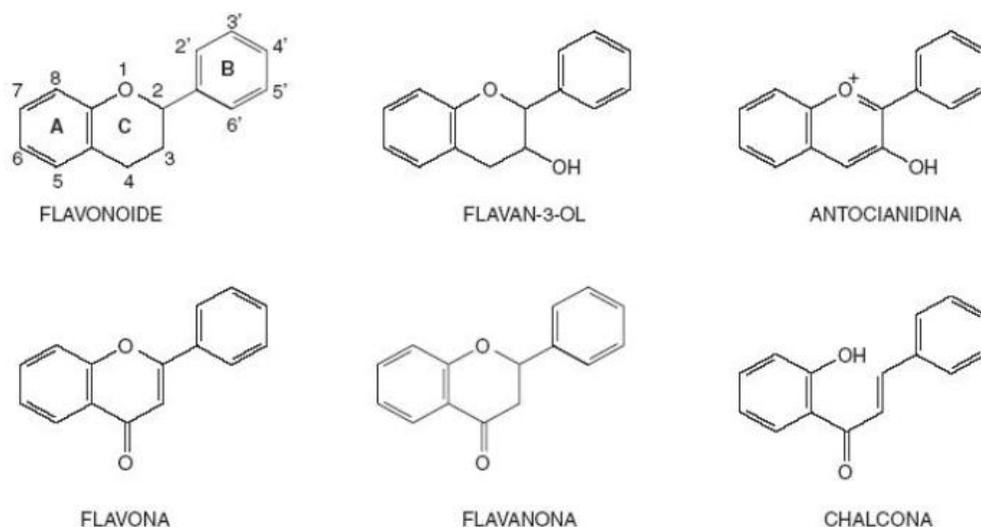


Figura 3. Estructura general y ejemplos de compuestos fenólicos del tipo flavonoide.

Fuente: Tenorio-López y col., 2006.

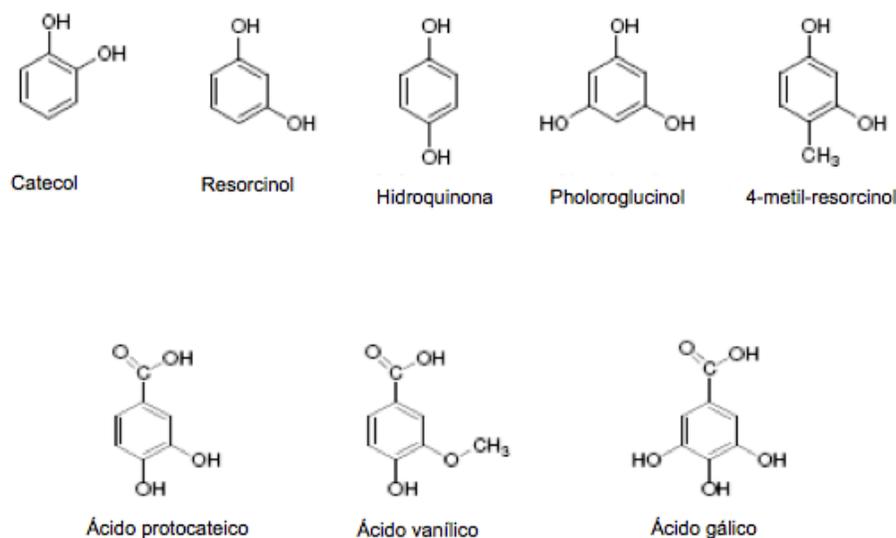


Figura 4. Ejemplos de compuestos fenólicos del tipo no flavonoides.

Fuente: Peñarrieta y col., 2014.

Compuestos fenólicos en el garbanzo

Los compuestos fenólicos en el garbanzo se pueden encontrar de diferentes formas, como lo son aquellos que están enlazados en las matrices del alimento o interaccionando química o físicamente con otras macromoléculas, por ejemplo, unidos químicamente a macromoléculas de alto peso molecular tales como fibra dietética, unido iónicamente a la matriz alimentaria, físicamente atrapado a la matriz de los alimentos y atrapado en varias estructuras celulares (Gokmen y col., 2009). Del total de los compuestos fenólicos que conforman el garbanzo, la mayor parte (70-90%) se encuentra en forma ligada por enlaces covalentes tipo éster a componentes de la pared celular como celulosa, hemicelulosa, lignina, pectina, etc. El resto (20-30%) pertenecen a los compuestos solubles o libres, que se encuentran en las capas periféricas del grano de garbanzo, los cuales pueden estar interaccionando con otras moléculas a través de enlaces débiles como puentes de hidrógeno, fuerzas electrostáticas, interacciones hidrofóbicas, dipolo-dipolo y fuerzas de Van Der Waals (Wang y col., 2016).

Sin embargo, una de las limitaciones para la obtención de los compuestos fenólicos es el método de extracción ya que son sensibles a las altas temperaturas. Annegowda y col., (2012), determinaron que un método de extracción de compuestos fenólicos asistido con sonicación

resultó ser altamente eficiente ya que los extractos obtenidos mediante este método mostraron mayor capacidad antioxidante comparada con sus controles. Una de las ventajas del uso de la extracción de fitoquímicos asistida por sonicación, es que se propicia una mayor eficiencia en la ruptura celular, proporcionando una mejor interacción de disolventes dentro y fuera de la matriz vegetal, favoreciendo así el arrastre de los compuestos de interés (Annegowda y col., 2012; Vilkhú y col., 2008), debido al fenómeno de implosión producido por la cavitación con el consecuente colapso de burbujas que se producen en el proceso. Otra ventaja de los métodos de extracción aplicando sonicación, es que se mejora el rendimiento de extracción empleando solventes, aún a bajas temperaturas (Albu y col., 2004; Gimbur y col., 2014). En estudios previos se ha reportado la optimización de la extracción utilizando ultrasonidos en hojas de carambola, pudiendo determinar las mejores condiciones para obtener la mayor cantidad de este tipo de compuestos (Xoca-Orozco y col., 2018).

Después del cocimiento, los compuestos fenólicos presentes en el grano son susceptibles a la degradación, por lo que la forma de almacenamiento juega un papel muy importante para conservarlos y de esta manera no afectar también su capacidad antioxidante. En el caso de los garbanzos se venden cocidos, tostados, en remojo, envasados y secos. En todos los casos, es importante observar que los granos estén enteros y sanos, sin olor, y de tamaño y color uniforme. Por lo tanto, se buscan otras formas más económicas, sencillas y eficaces como el uso de atmósferas modificadas para este fin.

Atmósferas Modificadas

La técnica de conservación en atmósfera modificada (AM) consiste en empaquetar los productos alimenticios en materiales con barrera a la difusión de los gases, en los cuales el ambiente gaseoso ha sido modificado para disminuir el grado de respiración, reducir el crecimiento microbiano y retrasar el deterioro enzimático con el propósito de alargar la vida útil del producto. Esta técnica tuvo sus orígenes en la década de 1930 cuando las embarcaciones que transportaban carne y mariscos desde Australia y Nueva Zelanda a Inglaterra, utilizaron gases en la preservación de los productos. Dependiendo de las exigencias del alimento a envasar, se requerirá una atmósfera con ambientes ricos en CO₂ y pobres en O₂, los cuales reducen el proceso de respiración en los productos conservando sus características fisicoquímicas, organolépticas y microbiológicas por un mayor tiempo, y en función de ésta, se elegirá el

empaque o película de protección que también tendrá que ofrecer una transparencia que permita visualizar los productos y que brinde resistencia mecánica (Ospina y Cartagena, 2008).

Los beneficios o perjuicios de esta técnica dependen del producto, variedad, cultivo, estado fisiológico, composición de la atmósfera, temperatura, humedad relativa (HR) y duración del almacenamiento, lo que explica la diversidad de resultados para un mismo producto, su uso adecuado mejora normalmente los resultados de la refrigeración convencional en atmósfera de aire. La mayoría de factores alterantes en los alimentos se puede minimizar, e incluso inhibirse, con el empleo de gases como N₂, O₂ y CO₂, a través del empaque y con el sistema de atmósfera modificada, permitiendo así evitar, retardar o minimizar las reacciones químicas, enzimáticas y microbianas, que ocasionan la degradación en los alimentos que se producen durante los períodos de almacenamiento (Ospina y Cartagena, 2008).

Algunos de los efectos favorables de la utilización de las AM son: el frenado de la actividad respiratoria, la reducción o inhibición de la síntesis de etileno, inhiben la maduración, limitan el ablandamiento (actividad de la pectinestearasa y la poligalacturonasa), retrasan las pérdidas de textura, retrasan los cambios de composición (pérdida de acidez y de azúcares, degradación de clorofila, desarrollo de antocianos, biosíntesis de carotenos, prevención de la rancidez y el pardeamiento enzimático paliando las alteraciones fisiológicas y los daños por frío, manteniendo el color y protegiendo las vitaminas de los productos frescos), reducen la velocidad de deterioro del órgano vegetal, prolongan la utilidad y a veces conserva la calidad de frutas y hortalizas, retardan el desarrollo de microorganismos, mantienen las características organolépticas de los productos, entre otras ventajas (Ospina y Cartagena, 2008).

Una vez mencionados los efectos favorables que produce la aplicación de esta tecnología, se han realizado estudios en donde se han evaluado diferentes características en frutos (moras azules y tunas rojas) tales como el reportado por López y col., (2011), quienes indican que el efecto de las AM controladas en cuanto al color externo, firmeza, sólidos solubles, producción de CO₂ y etileno, así como contenido de ácido ascórbico, β-Caroteno y licopeno (4 kPa O₂ + 96 kPa N₂) en tomate imperial en estado de madurez comercial es más efectivo que el almacenamiento a baja temperatura.

Por otra parte, en estudios para evaluar los efectos de la tecnología en melones, analizando los componentes aromáticos de dicha fruta, en AM con niveles de oxígeno entre 4% y 6%, y niveles

de CO₂ entre 0.2% y 0.5%, se obtuvo que las AM mantenían en mayor medida los componentes asociados a su aroma, en especial los ésteres. En AM controlada se obtuvo un 85.49% de presencia de ésteres, mientras que en la refrigeración normal se obtuvo un 62.41% (Wang y col., 2011). De igual manera se han reportado trabajos enfocados a distintos vegetales y frutos utilizando la tecnología de AM (Cabrera-Soto y col., 2009). En la tabla 4 se muestra la aplicación de las ATM en diferentes productos.

Tabla 4. Condiciones de almacenamiento en atmósferas controladas de algunos productos

Alimento	Temperatura (°C)	Oxígeno (%)	CO₂ (%)
Aceituna	8-12	2-5	5-10
Aguacate	5-13	2-5	5-10
Albaricoque	0-5	2-3	2-3
Banana Cavendish	15	2	6-8
Cereza	15	0-5	10-12
Ciruela	12	1-2	0-5
Durazno	15	1-2	5
Fresa	15	10	15-20
Higo	15	5	15
Kaki	0-5	3-5	1-8
Kiwi	0-5	2	5
Lechuga	1.5-1	2-5	≤2
Lima	10-15	5	0-10
Limón verde	10-15	5	0-5
Mango	8-15	5-10	5-6
Manzana	0-5	2-3	1-2
Melón	5-10	3-5	0
Naranja	1-10	10-15	0-7
Papaya	10-15	10-15	0-7
Pera	0-5	2-3	0-1
Pimiento dulce	8-12	3-5	0-10
Piña verde	10-15	5	10
Tomate maduro	8-12	3-5	0
Tomate verde	12-20	3-5	0
Toronja	10-15	3-10	5-10

Fuente: Barreiro y Sandoval, 2006

En cuanto al contenido de la capacidad antioxidante, se ha evaluado la actividad antioxidante en tuna roja, donde se encontró que gracias a esta tecnología luego de 16 días de almacenamiento la capacidad antioxidante se sigue manteniendo, conservando el contenido de polifenoles y betalaínas, los cuales son compuestos que pueden servir como protectores ya que regulan los radicales libres presentes en el cuerpo humano limitando así la probabilidad de generación de cáncer (Alba, 2014). En el estudio se encontró que a menor concentración de oxígeno la cantidad de polifenoles es mayor luego de 16 días de almacenamiento, en relación a atmósferas con mayor contenido de oxígeno. Esto debido al daño generado por la oxidación en los compuestos fenólicos.

Las betalaínas por su parte presentaron mayor concentración en atmósferas con baja concentración de oxígeno y alta concentración de CO₂, debido a que en estas condiciones la actividad de algunas enzimas como la peroxidasa se ve disminuida, logrando obtener un alimento con propiedades nutricionales cercanas al momento de su cosecha, luego de un período de almacenamiento (Alba, 2014). Según Sánchez y col., (2007) se ha desarrollado poca investigación sobre la capacidad antioxidante de frutas tropicales y legumbres en función a un período de almacenamiento. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación es determinar el efecto de la temperatura y las AM sobre la capacidad antioxidante del garbanzo cocido durante su almacenamiento.

JUSTIFICACIÓN

A pesar de que el garbanzo contiene gran cantidad de nutrientes (proteína, carbohidratos, vitaminas y minerales), está subestimado el contenido de compuestos fenólicos, ya que la mayoría de los estudios se enfocan en los del tipo libre y dejan de lado aquellos que están unidos a la matriz alimentaria (ligados) representando aproximadamente del 60 al 80% de su contenido total. Esto trae como desventaja el que no se aprovechen los beneficios que este tipo de compuestos pueden conferir, como lo es la capacidad antioxidante. Esta actividad biológica confiere mayor valor agregado a esta legumbre debido a que puede participar en la prevención de ciertos padecimientos, principalmente enfermedades crónico-degenerativas. Sin embargo, los compuestos fenólicos son susceptibles a la degradación demostrándose en varios estudios que disminuye la cantidad de compuestos fenólicos aproximadamente en un 30-50% después del cocimiento. Pero a pesar de esto, la cantidad de compuestos fenólicos en el garbanzo cocido conservan alta capacidad antioxidante. Sin embargo, durante el almacenamiento pueden volver a verse afectados disminuyendo paulatinamente esta actividad biológica. Es por eso que se recomienda analizar métodos de conservación, como atmósferas modificadas, ya que sus grandes beneficios como la disminución del grado de respiración del alimento, reducción del crecimiento microbiano y retraso del deterioro enzimático, podrían ayudar a la conservación de los compuestos fenólicos y a su capacidad antioxidante y consecuentemente poder tener una opción adicional a su comercialización.

HIPÓTESIS

Los compuestos fenólicos del garbanzo cocido y su actividad antioxidante se logran conservar almacenados con atmósferas modificadas durante 50 días de almacenamiento a bajas temperaturas.

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar el efecto de la temperatura y atmósferas modificadas sobre la capacidad antioxidante del garbanzo (*Cicer arietium*) cocido durante su almacenamiento.

Objetivos Específicos

1. Comparar y cuantificar la variación en los compuestos fenólicos libres, conjugados y ligados del grano de garbanzo cocido bajo las diferentes atmósferas modificadas.
2. Cuantificar la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos libres, conjugados y ligados del garbanzo cocido bajo atmósferas modificadas durante su almacenamiento.

METODOLOGÍA

Los análisis y técnicas que se realizaron en esta investigación se muestran en el diagrama general del trabajo experimental realizado (figura 5).

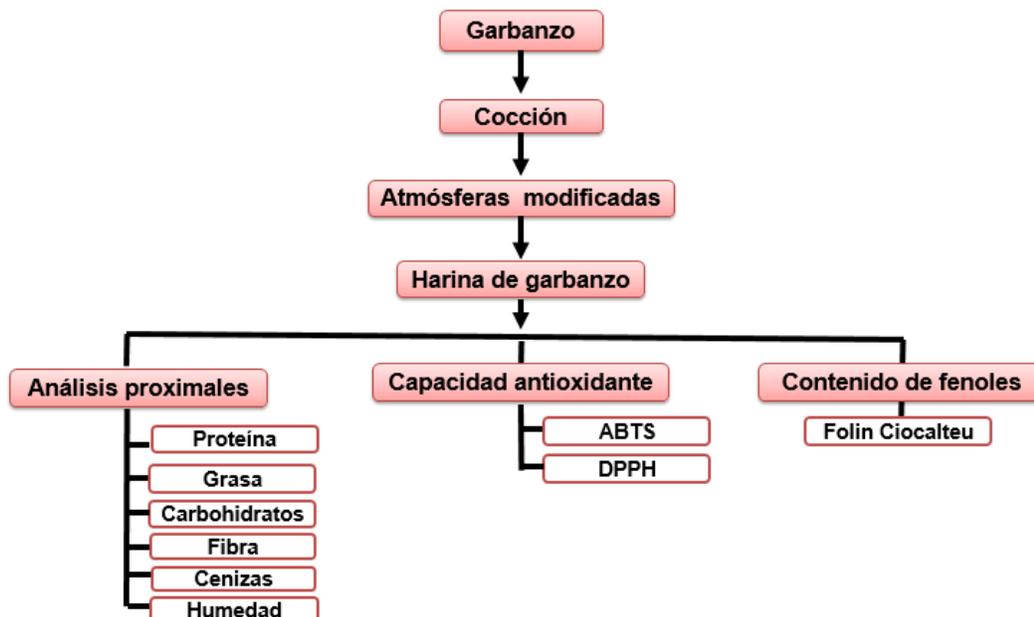


Figura 5. Esquema General del Trabajo Experimental

Obtención de la muestra vegetal

La variedad de garbanzo tipo kabuli “Blanoro” fue proporcionada por el Campo Covadonga, situado en la calle 12 Norte, en la Costa de Hermosillo, Sonora. Coordenadas: Longitud (dec): - 111.483056, Latitud (dec): 28.880556, a 70 metros sobre el nivel del mar.

Preparación de las muestras

El procedimiento se basó en la metodología de González y col. 2016, con algunas modificaciones. La muestra de garbanzo se puso en remojo (1 kg) cubriendo en su totalidad de agua y dejando 10 cm más de agua, por 8 horas. El cocimiento se llevó a cabo en una proporción 1:5 (grano/agua) utilizando una vaporera durante 40 min. Después del cocimiento se dejó enfriar la muestra para su almacenamiento.

Almacenamiento en atmósferas modificadas (AM)

Una vez obtenido el garbanzo cocido, se procedió a almacenar en bolsas herméticas de Polipropileno marca GrainPro (11 x 15 cm) muestras de aproximadamente 50 g. Posteriormente se procedió a inyectar el gas (100%) correspondiente en cada uno de los tratamientos (CO₂, N₂ y Aire), una vez intercambiado el gas, las bolsas fueron cerradas con una selladora.

El tiempo de almacenamiento se realizó en un lapso de 50 días (bolsas por triplicado). Los tratamientos de la muestra consistieron en la evaluación de dos factores principales los cuales fueron la temperatura (-20°C, 4°C, 25°C y 50 °C) y el uso de atmósferas modificadas (CO₂, N₂ y Aire) con un mezclador de gases (Thermco, www.thermco.com). Se monitoreó la concentración de gases a 0, 25 y 50 días a través de un analizador de gases (Viasensor, www.viasensor.com).

Obtención de la harina de garbanzo

Una vez cocido el garbanzo antes y después de las AM, se procedió a liofilizar de 2-4 días. Una vez liofilizado el grano, se molió en un molino Thomas-Wiley (modelo 4, USA) y se homogenizó el tamaño de partícula a 0.5 mm con una malla (Cabrera y col., 2009). Para todas las determinaciones como la cuantificación de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante las muestras se desengrasaron previamente por el método Soxtec.

Determinación de Análisis Químico Proximal

Se realizó la caracterización fisicoquímica del garbanzo de acuerdo con los métodos oficiales descritos por la AACC (1997), comprendiendo los siguientes análisis: Humedad (método 925.09), por secado en estufa a 104°C hasta peso constante; 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 Micro Kjeldahl, usando 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 Soxtec; Carbohidratos: se determinó por la diferencia.

Extracción de compuestos fenólicos

Se realizaron diferentes metodologías para la extracción de cada uno de los tipos de compuestos fenólicos, a continuación, se detalla la metodología de extracción para cada uno de ellos.

Extracción de fenoles libres

Se colocaron 5 g de harina de garbanzo cocido liofilizado y molido y se añadieron 10 mL de metanol (MeOH) al 80%. Se agitaron durante 60 minutos a 100 rpm en una placa termoagitadora. Posteriormente se centrifugaron durante 15 min a 4000 rpm a 4 °C. Se recuperó el sobrenadante y al sedimento se le realizó una segunda extracción. Se juntaron ambos sobrenadantes y el sedimento se guardó para la extracción de fenoles ligados.

Los sobrenadantes se filtraron en papel Whatman 4 y se sometieron al rotavapor hasta tener 5 mL de extracto. Posteriormente se realizaron 2 lavados con acetato de etilo de 1:1 v/v. 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 (Cabrera-Soto y col., 2009).

Extracción de fenoles solubles conjugados

Los compuestos fenólicos conjugados fueron obtenidos de la fase acuosa de los fenoles libres, se ajustó a un volumen de 6 mL y se aplicaron pulsos ultrasónicos con el equipo ultrasonificador 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 con metanol (Cabrera-Soto y col., 2009).

Extracción de fenoles Insolubles ligados

Los compuestos fenólicos ligados fueron obtenidos del sedimento de los fenoles libres (Cabrera-Soto y col., 2009). Se dejó secar el sedimento en campana por 10 horas dentro de un vaso de precipitado, para después mezclarlo con 10 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.

Determinación de contenido de fenoles

Se realizó por la técnica de Folin-Ciocalteu (Prior y col., 2005). Se tomaron 10 µL de extracto de cada muestra y se agregaron 25 µL de solución de Folin 1 N. Se dejó reposar por 5 min en refrigeración. Posteriormente se adicionaron 25 µL de Na₂CO₃ al 20 % y 140 µL de agua destilada

para llegar a un volumen final de 200 μL . Se dejó reposar media hora y se determinó la absorbancia a 760 nm. Se realizó una curva con el estándar ácido gálico en metanol. Se utilizó agua como blanco (control negativo) y metanol. Los resultados se expresaron como miligramos de equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra seca (mg EAG/gms). Todas las mediciones se realizaron por triplicado.

Determinación de la capacidad antioxidante

Método ABTS

Se tomaron 270 μL de la solución del radical catiónico preparado como lo indica Molyneux (2004) y se adicionaron 20 μL de muestra. 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). Todas las mediciones se hicieron por triplicado. Los resultados fueron expresados como % de inhibición.

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{\text{absorbancia control} - \text{absorbancia muestra}}{\text{absorbancia control}} \times 100$$

Método DPPH

Se preparó el radical DPPH a una concentración 0.022 mg/mL en metanol para posteriormente ajustarlo a una absorbancia de 0.7 ± 0.01 en una longitud de onda de 515 nm. Una vez ajustado, se tomaron 200 μL de radical DPPH y se agregaron 20 μL 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. Todas las mediciones se hicieron por triplicado (Gutiérrez y col., 2008). Los resultados fueron expresados como % de inhibición.

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{\text{absorbancia control} - \text{absorbancia muestra}}{\text{absorbancia control}} \times 100$$

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.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Análisis químico proximal del grano de garbanzo

Se realizaron los análisis proximales al grano de garbanzo crudo y cocido para evaluar el contenido de nutrientes inicial en cada una de las muestras de acuerdo a las metodologías antes descritas. Los resultados obtenidos se pueden observar en la tabla 5.

Tabla 5. Análisis químico proximal inicial realizado en garbanzo crudo y cocido en base seca

COMPOSICIÓN (%)	GARBANZO CRUDO	GARBANZO COCIDO
Carbohidratos	55.47 ^b ± 0.50	67.15 ^a ± 0.34
Cenizas	02.80 ^a ± 0.47	01.75 ^b ± 0.04
Proteína	28.40 ^a ± 5.75	18.55 ^b ± 2.22
Grasa	06.23 ^a ± 0.07	05.35 ^b ± 0.08
Fibra	07.41 ^a ± 0.97	07.20 ^a ± 0.82

ANOVA de una vía entre columnas. Media ± Desviación estándar en base a tres réplicas
Letras diferentes entre columnas indican diferencia significativa (P<0.05)

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 y col. (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 y col., 2013; Herrera y col., 2014), por lo tanto, el contenido de cenizas obtenido en el presente estudio está dentro de este rango (2.8%).

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 y col., 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 y col., 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 alto en comparación con otras legumbres que en crudo presentan los mismos valores.

De acuerdo a los resultados de la tabla 5, 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 y col., (1987) obtuvo 4.5 % en garbanzo tipo Kabuli, Han (2008) reportó 6.1% en la misma variedad, mientras Muy y col., (2011) 6.0%, Herrera y col., (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 y col., 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 y Ruíz, 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 y col., (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 (67.15%) respecto al crudo (55.47%). 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 y col., (2013) reportaron 66.3%; Heiras-Palazuelo y col., (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 a los resultados obtenidos durante el almacenamiento del garbanzo en AM, las muestras almacenadas en atmósfera de N₂ a una temperatura de -20 °C conservan casi en su totalidad los compuestos fenólicos y su capacidad antioxidante (datos mostrados más adelante). Sin embargo, se realizó un análisis proximal a estas condiciones para determinar si hubo cambios o no dentro del contenido nutrimental a los 50 días de almacenamiento (tabla 6). Según las determinaciones obtenidas, se puede observar que no hubo diferencias significativas (p<0.05) entre las cantidades iniciales y hasta los 50 días de almacenamiento.

Tabla 6. Análisis químico proximal en harina de garbanzo cocido (HGC) en día 0 y harina de garbanzo almacenado (HGA) a -20 °C, en atmósfera de N₂ al día 50

COMPOSICION (%)	HGC 0 DÍAS	HGA -20, N₂, 50 DÍAS
Carbohidratos	67.15 ^a ± 0.34	67.29 ^a ± 0.65
Cenizas	01.75 ^a ± 0.04	02.05 ^a ± 0.03
Proteína	18.55 ^a ± 2.22	17.91 ^a ± 2.05
Grasa	05.35 ^a ± 0.08	05.45 ^a ± 0.02
Fibra	07.20 ^a ± 0.82	07.30 ^a ± 0.60

ANOVA de una vía entre columnas. Media ± Desviación estándar en base a tres réplicas
Letras diferentes entre columnas indican diferencia significativa (P<0.05)

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. Además, que con la aplicación de las AM se pueden conservar estos nutrientes al menos durante 50 días de almacenamiento.

Almacenamiento en Atmósferas Modificadas (AM)

Las AM consistieron en el llenado de las bolsas con cada uno de los gases (N_2 , CO_2 y aire) y posteriormente se llevó a cabo el cierre hermético con la ayuda de una selladora. Las muestras fueron almacenadas por triplicado a las diferentes temperaturas ($-20^\circ C$, $4^\circ C$, $25^\circ C$ y $50^\circ C$) y se realizaron muestreos a los 0, 25 y 50 días de almacenamiento para las determinaciones de contenido fenólico y capacidad antioxidante.

Las muestras almacenadas de garbanzo cocido a $-20^\circ C$ y $4^\circ C$ a los 25 y 50 días de almacenamiento, no presentaron algún cambio físico en el grano en comparación con las bolsas almacenadas tanto a $25^\circ C$ como a $50^\circ C$, en los que se produjo una expansión en el volumen original de la bolsa y un cambio en el color original del garbanzo, así como la presencia de un ligero olor a alcohol en las muestras almacenadas a la temperatura de 25 y $50^\circ C$ (figura 6 y 7).

Posteriormente, se determinó la cantidad de gases al inicio y al final del experimento en todas las muestras (figura 8). Se observó diferencias en la concentración de gases inicial en comparación con la final, ya que se puede observar el aumento en la concentración de CO_2 en todas las muestras al día 50 siendo mayores a 25 y $50^\circ C$. Estas últimas temperaturas favorecen el crecimiento microbiano y, por las condiciones utilizadas, es probable la presencia de anaerobios, lo que también puede explicar el cambio de color original del garbanzo y el olor a alcohol en estas muestras derivado de una fermentación.



Figura 6. Almacenamiento de garbanzo en atmósferas modificadas a los 25 días.



Figura 7. Almacenamiento de garbanzo en atmósferas modificadas a los 50 días.

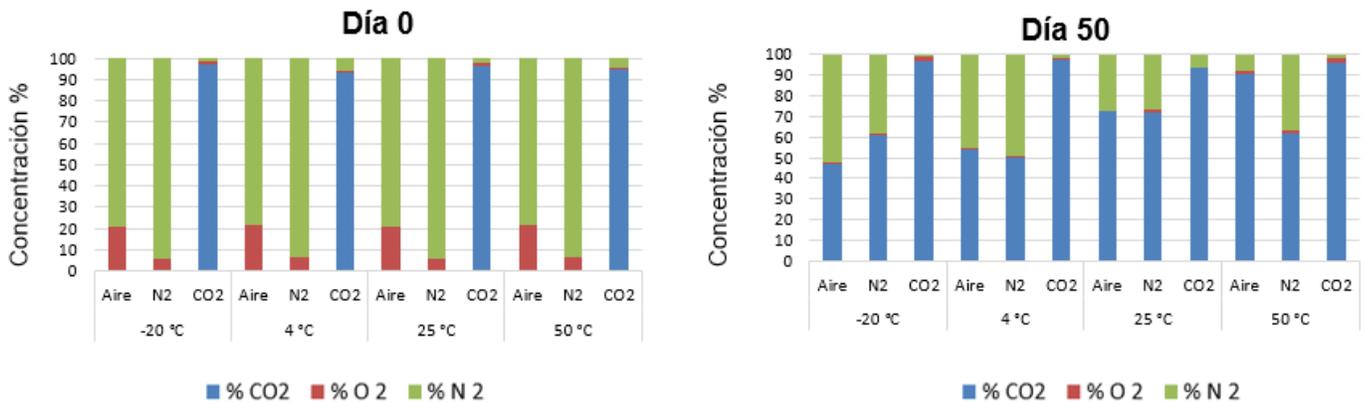


Figura 8. Comparación en la medición de la concentración de los gases en muestras de garbanzo cocido y almacenado al día 0 y al día 50.

El proceso fermentativo de los microorganismos anaerobios comprende una serie de procesos, que interactúan entre sí, en una serie de reacciones metabólicas complejas en ausencia de oxígeno. Uno de los procesos metabólicos involucra la hidrólisis de sólidos insolubles, es decir partículas orgánicas (celulosa o hemicelulosa) o coloides orgánicos (proteínas), en compuestos solubles simples que pueden ser absorbidos a través de la pared celular, para que posteriormente, dichas moléculas hidrolizadas sean catalizadas por bacterias fermentativas en alcoholes y ácidos grasos, teniendo como resultado de este proceso, la producción de hidrógeno y CO₂ (Vásquez y Dacosta, 2007; Pérez y Torres, 2008). Esto puede explicar el aumento en las concentraciones de CO₂ a las temperaturas de 25 y 50 °C.

Por otra parte, la Ley de Charles es una ley de los gases que relaciona el volumen y la temperatura de una cierta cantidad de gas a presión constante. Esta ley indica que el volumen del gas a presión constante es directamente proporcional a su temperatura, lo cual tiene como consecuencia que si la temperatura aumenta el volumen aumenta ó si la temperatura disminuye el volumen disminuye, por lo que se puede inferir que la expansión de las bolsas de muestras almacenadas en altas temperaturas se vio influenciada también por este fenómeno.

Sin embargo, a temperaturas bajas (4 y -20 °C), no se detectaron físicamente cambios de color ni olor a alcohol, pero si hubo un incremento en la concentración de CO₂ comparado con las cantidades iniciales. Esto puede deberse a que una alta tasa de respiración celular implica un metabolismo acelerado y está relacionado con una vida corta en almacenamiento, por lo que controlar la velocidad de respiración celular permite la regulación del metabolismo del vegetal, ya

que al momento de bajar las temperaturas de almacenamiento se reduce la producción de CO₂ resultante del proceso respiratorio de la célula (Kan y col., 2010).

Se ha visto que las células vivas realizan procesos derivados del metabolismo celular como lo es la producción de CO₂ proveniente del proceso respiratorio, este proceso es un importante paso para el diseño y selección de los sistemas de almacenamiento de productos (Agudelo y col., 2016) como el empleado en este trabajo de investigación, haciendo énfasis al uso de atmósferas modificadas.

Las bajas temperaturas disminuyen la tasa de respiración, el consumo de O₂, la producción de CO₂, producción de etileno y otros procesos metabólicos se ven afectados (Waghmare y col., 2013), de manera que a temperaturas de 4 y -20 °C el ciclo metabólico de las células se afecta disminuyendo así la concentración de CO₂ en las muestras de garbanzo a comparación de 25 y 50 °C. Aunado a esto, la disminución de las temperaturas tiende a causar alteraciones celulares por la inactivación de enzimas asociadas a las membranas mitocondriales para metabolizar los productos derivados de la glucólisis disminuyendo de manera indirecta la producción de CO₂ celular (Kader, 1994).

Cuantificación de fenoles libres, conjugados y ligados del garbanzo

La determinación de compuestos fenólicos se llevó a cabo por medio de la técnica Folin-Ciocalteu, primeramente, se realizó la cuantificación de fenoles contenidos en el garbanzo crudo y cocido sin la aplicación de algún tratamiento, los resultados se pueden observar en la tabla 7. Posteriormente se realizó la medición de los fenoles en garbanzo cocido y almacenado en atmósferas modificadas (Figuras 9, 10 y 11).

Tabla 7. Contenido de fenoles en harina de garbanzo cocido y crudo sin tratamiento

Extracto	mg EAG/g Extracto	
	HGCr	HGCo
Fenoles libres	0.9996 ^{bA} ± 0.29	0.3150 ^{bB} ± 0.05
Fenoles conjugados	0.4929 ^{cA} ± 0.04	0.3643 ^{bB} ± 0.02
Fenoles ligados	2.5643 ^{aA} ± 0.3	2.6135 ^{aA} ± 0.2
Fenoles Totales	4.0560 ± 0.27	3.2928 ± 0.16

HGCr: Harina de garbanzo cruda

HGCo: Harina de garbanzo cocida

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

Media ± Desviación estándar en base a tres réplicas

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

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

En un estudio realizado por Sreerama y col., (2010), se 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 y col., (2017) reportó que en la cascarilla de garbanzo existe 1.61 mg EAG/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, a las condiciones propias del cultivo y a las técnicas utilizadas para la extracción de los compuestos (Saura-Calixto, 20010), la metodología de extracción utilizada fue muy similar a la de dichos estudios, sin embargo el uso de pulsos ultrasónicos en el proceso de extracción de dichos compuestos pudo haber ejercido un efecto positivo en la liberación de los compuestos fenólicos ligados por lo que la cuantificación de los fenoles totales fue mayor.

Por otra parte, existen estudios en el que el contenido fenólico en granos ha sido comúnmente subestimado, ya que los fenoles ligados a la matriz del alimento generalmente no se reportan y solo se basan en el contenido de fenoles libres, esto se debe al método de extracción. Sin embargo, Heira-Palazuelos y col., (2013) y Wang y col., (2016) se han dado a la tarea de cuantificar fenoles libres y ligados, pero solo en garbanzo crudo y reportando la mayor proporción de fenoles en la forma ligada. Por otro lado, en un estudio realizado por Xu y col., (2007) se cuantificaron fenoles totales en garbanzo, reportando aproximadamente 1.68 mg EAG/g de muestra, a diferencia de nuestros resultados donde se obtuvo en harina de garbanzo tanto crudo

como cocido una cantidad mayor en fenoles totales reportando 4.056 mg EAG/g y 3.2928 mg EAG/g. Por lo tanto, la cantidad de fenoles totales en el garbanzo puede variar considerablemente dependiendo de varios factores, como el lugar de muestreo, fecha de cosecha, composición fitoquímica, técnicas y condiciones de extracción, entre otros.

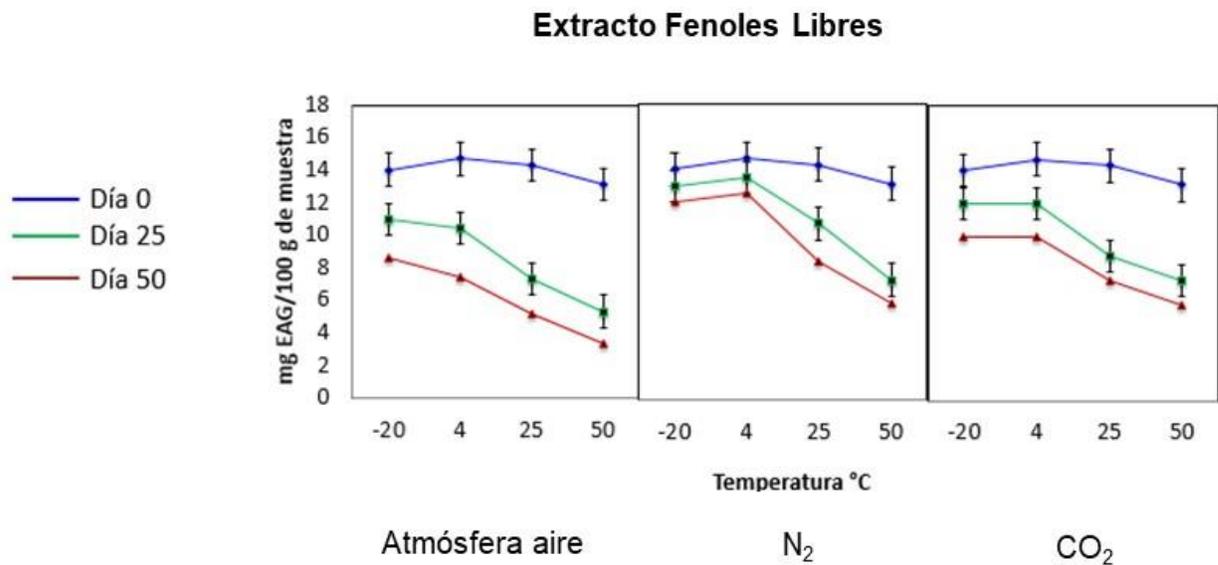


Figura 9. Comportamiento de los fenoles libres del garbanzo durante el almacenamiento con AM

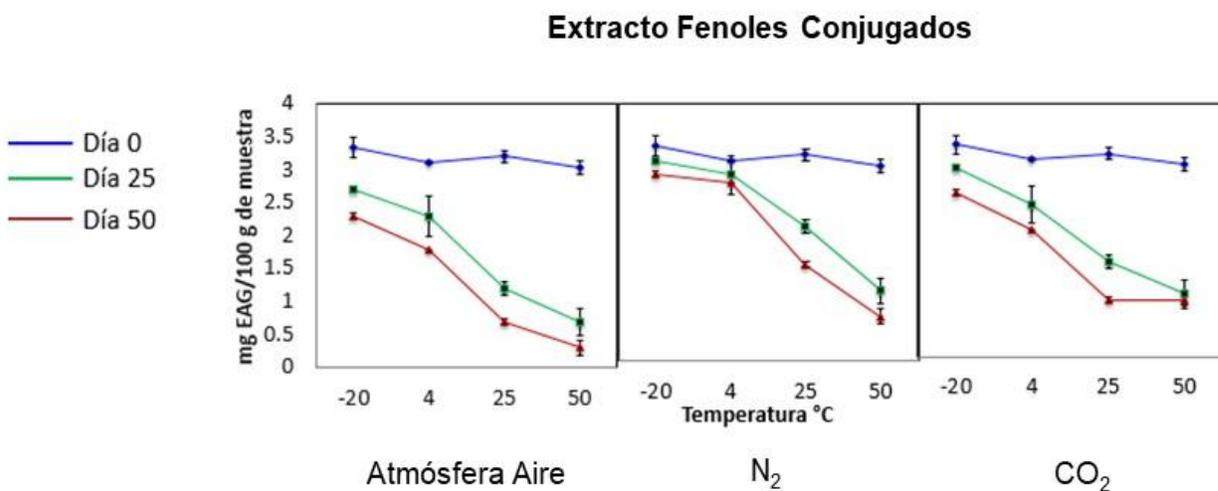


Figura 10. Comportamiento de los fenoles conjugados del garbanzo durante el almacenamiento con AM

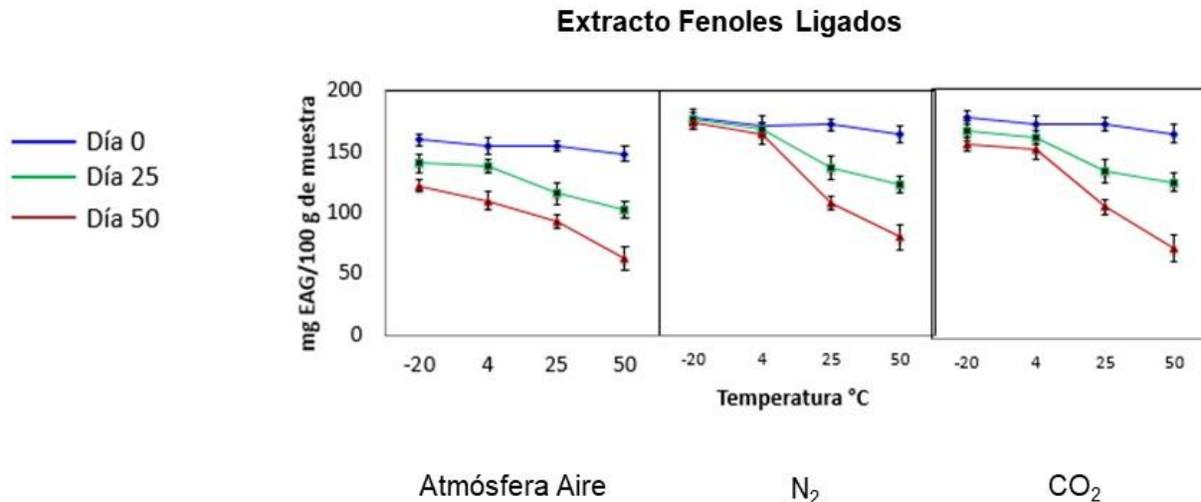


Figura 11. Comportamiento de los fenoles ligados del garbanzo durante el almacenamiento con AM

En los extractos de fenoles libres y conjugados (Figuras 9 y 10) hubo una disminución de contenido de fenoles en las muestras almacenadas en altas temperaturas en los 3 tipos de atmósferas utilizadas, lo que indica que los compuestos fenólicos son susceptibles a la degradación una vez que son almacenados a estas condiciones. Los compuestos fenólicos ligados (Figura 11) se observaron más conservados probablemente porque están más protegidos dentro de la matriz alimentaria pues se encuentran unidos a polisacáridos como pectina, celulosa y hemicelulosa. Sin embargo, se pudo observar que el contenido de fenoles almacenado a -20°C y 4°C en la atmósfera de N_2 y en un tiempo de almacenamiento hasta 50 días no se obtuvo diferencia significativa ($p > 0.05$) en la cuantificación de fenoles, por lo que nos indica que la atmósfera de N_2 , es la más adecuada para conservar estos compuestos del garbanzo cocido durante su almacenamiento.

Cuantificación de la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos libres, conjugados y ligados del garbanzo cocido almacenado en diferentes atmósferas modificadas

Se cuantificó la capacidad antioxidante utilizando dos técnicas colorimétricas (ABTS y DPPH) en cada una de ellas el resultado se expresó en % de inhibición de la muestra contra el radical.

Los resultados obtenidos para la inhibición del radical ABTS en los extractos de fenoles libres, conjugados y ligados se muestran a continuación en las figuras 12, 13 y 14 respectivamente.

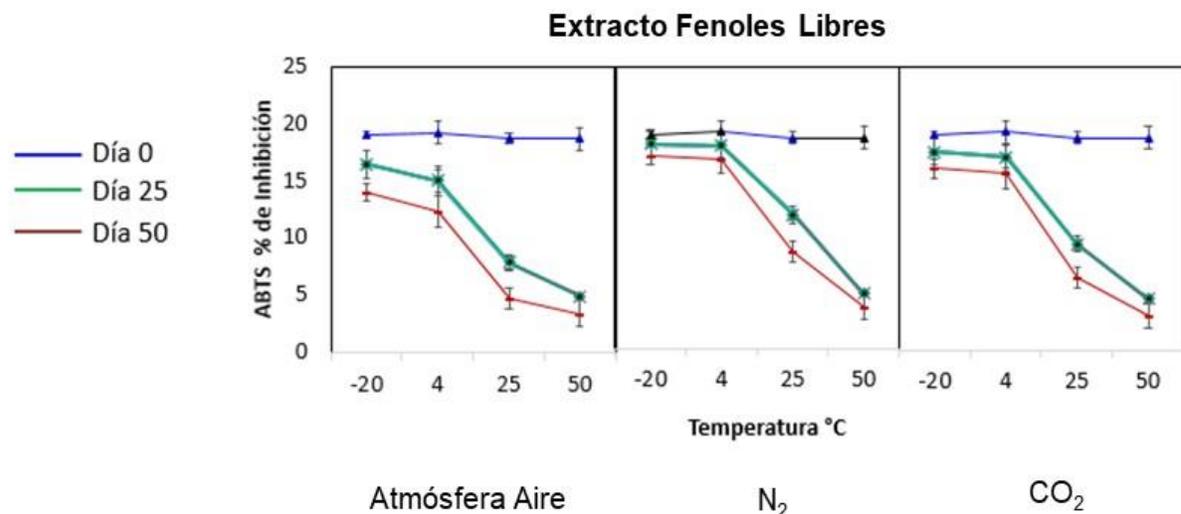


Figura 12. Capacidad antioxidante por ABTS para extractos de fenoles libres en atmósferas modificadas.

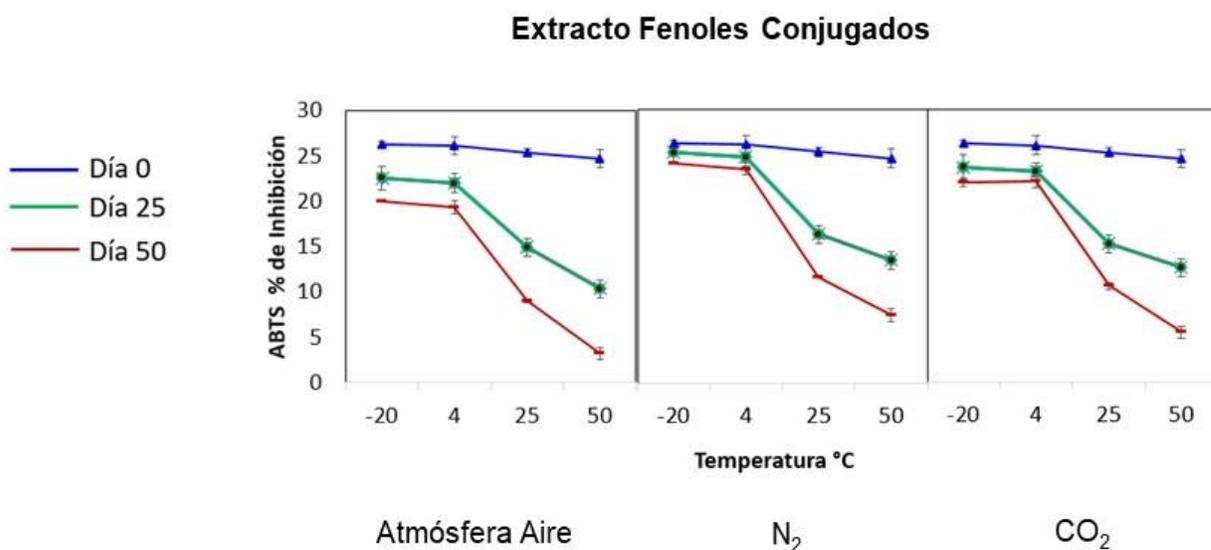


Figura 13. Capacidad antioxidante ABTS para extractos de fenoles conjugados en atmósferas modificadas.

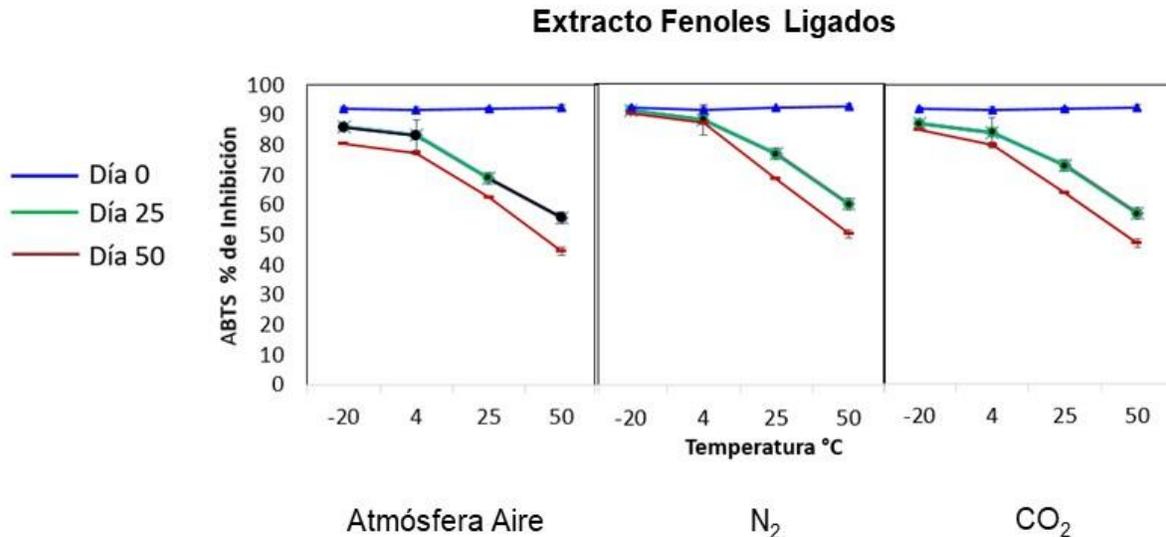


Figura 14. Capacidad antioxidante ABTS para extractos de fenoles ligados en atmósferas modificadas.

En los resultados obtenidos en las figuras 12, 13 y 14 se puede observar que la capacidad antioxidante mostró el mismo patrón de comportamiento. Los extractos libres, conjugados y ligados obtenidos de las muestras bajo las condiciones con N₂ y a una temperatura de -20°C lograron mantenerse estables y sin diferencia significativa ($p>0.5$), presentando un porcentaje de inhibición de alrededor de 18% en extracto de fenoles libres, un 25 % en extracto de fenoles conjugados y un 90 % de inhibición en extractos de fenoles ligados.

Probablemente en los extractos de fenoles 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 y col., 2007).

Cabe mencionar que la capacidad antioxidante en el contenido de fenoles en forma ligada fue mayor ya que en el garbanzo aproximadamente el 70 % de estos compuestos se encuentran atrapados en la pared celular y con el proceso de sonicación se lograron liberar de la matriz del alimento por lo que su cuantificación fue mucho más elevada. Por lo tanto, el pretratamiento con pulsos ultrasónicos puede ser una herramienta adecuada para incrementar el rendimiento de los compuestos fenólicos ligados y de esta forma poder cuantificar con mayor precisión el contenido total de fenoles en una muestra.

Los resultados obtenidos para la inhibición del radical DPPH en extractos de fenoles libres, conjugados y ligados se muestran en las Figuras 15, 16 y 17 respectivamente.

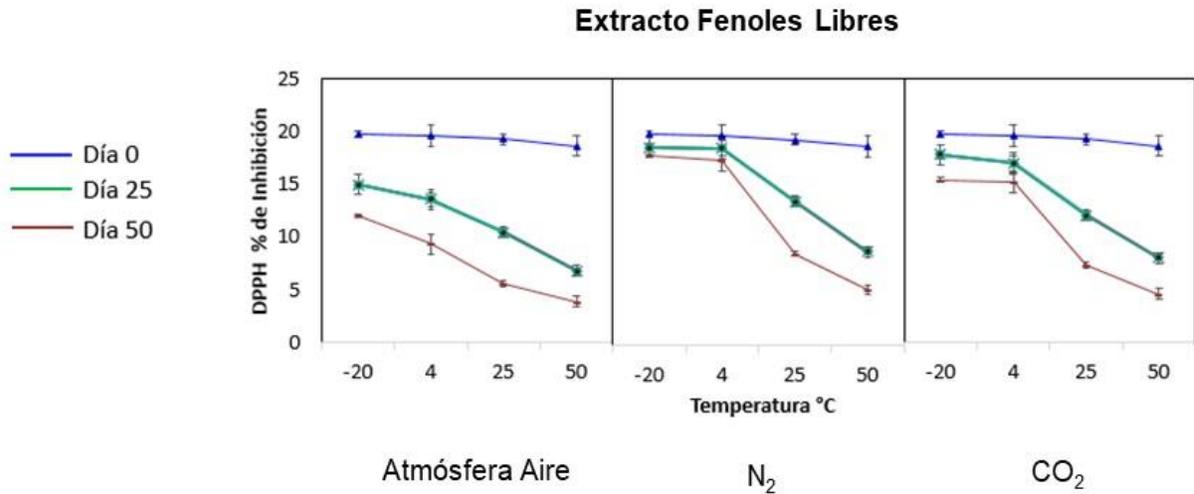


Figura 15. Capacidad antioxidante DPPH para extractos de fenoles libres en atmósferas modificadas.

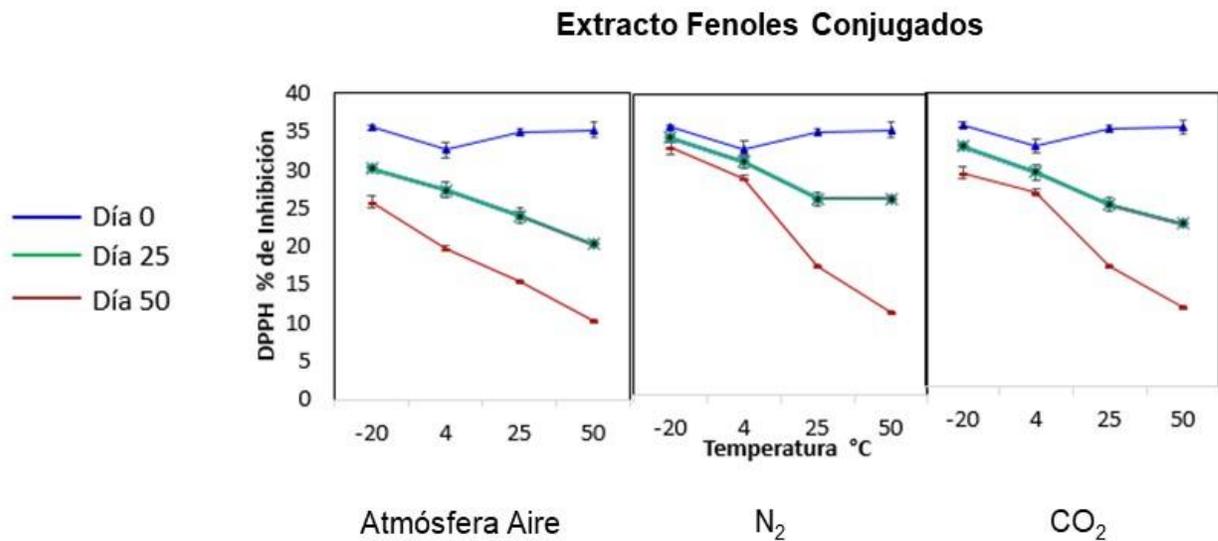


Figura 16. Capacidad antioxidante DPPH para extractos de fenoles conjugados en atmósferas modificadas.

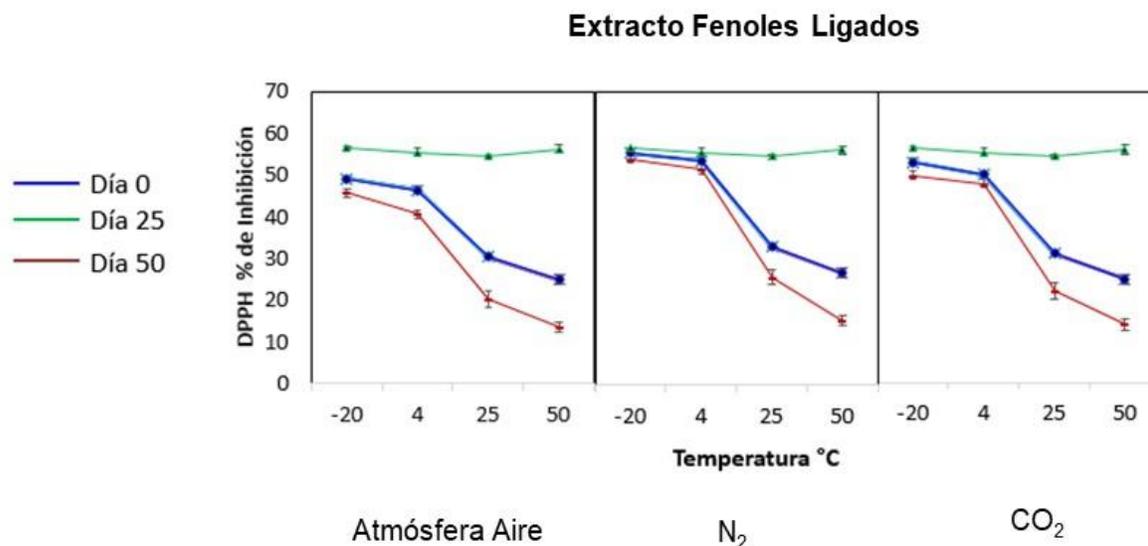


Figura 17. Capacidad antioxidante DPPH para extractos de fenoles ligados en atmósferas modificadas.

De acuerdo a los resultados obtenidos, se puede observar el mismo comportamiento que con el radical ABTS en donde los extractos de fenoles del garbanzo cocido en sus tres formas (libres, conjugados y ligados) se mantuvieron más estables en la atmósfera de N₂ y a la temperatura de -20 °C durante el almacenamiento, reportando un porcentaje de inhibición de alrededor de 18% en extracto de fenoles libres, 33 % en extracto de fenoles conjugados y un 55% en extracto de fenoles ligados, siendo los ligados quienes confirieron la mayor actividad.

Aunque ambos radicales están clasificados con el mismo mecanismo de acción, que es por transferencia de electrones (SET por sus siglas en inglés), 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 y col.,1997; Yokozawa y col.,1998). En tanto que ABTS reacciona con compuestos aromáticos hidroxilados independientemente que sean fenólicos o no (Prior y col., 2005; Roginsky y Lissi, 2005). Por otra parte, con el ABTS se puede medir la actividad de compuestos de naturaleza hidrofílica y lipofílica (Krishnaiah y col., 2011), mientras que el DPPH disuelto en metanol tiene más 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 en estudio (resorcinol, ácido gálico, ácido caféico, ácido

siríngico, ácido clorogénico, quercetina, eugenol y kaempferol (datos obtenidos por nuestro grupo de trabajo no publicados aún), explica el comportamiento observado en ambos radicales, ya que la mayoría de los compuestos fenólicos identificados son de naturaleza más hidrofílica aumentando su afinidad por el radical ABTS.

Por todo lo anterior, al ser el N_2 un gas totalmente inerte y muy poco soluble en agua y grasas lo convierte en un producto ideal para la conservación de alimentos y bebidas ya que por sus características fisicoquímicas el N_2 es utilizado en el empaque en AM para reemplazar el O_2 del interior del envase y evitar problemas oxidativos en los alimentos manteniendo los altos niveles de capacidad antioxidante en el garbanzo.

CONCLUSIONES

- La calidad nutricional del garbanzo en estudio es de buena calidad y a pesar de que el cocimiento produjo la disminución de algunos de ellos, 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.
- La cantidad de los compuestos fenólicos ligados del garbanzo en comparación con la bibliografía fueron más altos, lo que sugiere que el pretratamiento con pulsos ultrasónicos puede ser útil para obtener mayor rendimiento de este tipo de compuestos y así poder cuantificar con mayor precisión la cantidad total de los compuestos fenólicos.
- La AM de N₂ lo convierte en un gas ideal para la conservación de los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante del garbanzo evitando los problemas oxidativos al menos durante 50 días de almacenamiento a temperaturas bajas. Por lo que puede aprovecharse para la comercialización del garbanzo cocido.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agudelo, C.; Restrepo, C.; Zapata J. E. 2016. Respiration kinetic of mango (*Mangifera indica* L.) as function of storage temperature. *Revista Facultad Nacional de Agronomía, La Plata*, v.69, p. 7985-7995.
- Aguilar-Raymundo V.G., Vélez-Ruiz J.F. 2013. Propiedades nutricionales y funcionales del garbanzo (*Cice arietinum* L). *Temas selectos de ingeniería de Alimentos*.
- 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.
- Aguilera, Y., Esteban, R. M., Benítez, V., Mollá, E., & Martín-Cabrejas, M. A. 2009. Starch, functional properties, and microstructural characteristics in chickpea and lentil as affected by thermal processing. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(22), 10682-10688.
- Alba, J. 2014. Betalaínas, Polifenoles y Actividad Antioxidante en Tuna Roja Mínimamente Procesada, Almacenada en Atmósferas Controladas, *Gayana Bot.*, 71(2), 222-226
- Albu, S., Joyce, E., Paniwnyk, L., Lorimer, P., & Mason, J. (2004). Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. *Ultrasonics Sonochemistry*, 11, 261–265
- Alonso, B. O., Rovir, R. F., Vegas, C. A., & Pedrosa, M. M. (2010). Papel de las leguminosas en la alimentación actual. *Actividad dietética*, 14(2), 72-76.
- American Association of Cereal Chemists (AACC). (2000). *Approved Methods of the AACC*. 10th edn. Methods 08-01, 30-25, 44-15A, 46-30, and 76-13. St. Paul, MN: AACC.
- Annegowda, H. V., Mordi, M. N., Ramanathan, S., Hamdan, M. R., & Mansor, S. M. 2012. Effect of extraction techniques on phenolic content, antioxidant and antimicrobial activity of *Bauhinia purpurea*: HPTLC determination of antioxidants. *Food analytical methods*, 5(2), 226-233.
- Atmani, D., Ruiz-Larrea M.B., Ruiz-Sanz, J.I., Lizcano, L.J., Bakkali. F., Atmani, D. 2011. Antioxidant potential, cytotoxic activity and phenolic content of *Clematis flammula* leaf extracts. *J. Med. Plants Res.* 5, 589.
- Avello M., Suwalsky M. 2006. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección, *atenea* 494, pp 161-172.

- Barreiro, J. A., & Sandoval, A. J. (2006). *Operaciones de conservación de alimentos por bajas temperaturas*. Equinoccio.
- Berra, B., Caruso, D., Cortesi, N., Fedeli, E., Rasetti, M. F. y Galli, G. 1995. Antioxidant properties of minor polar components of olive oil on the oxidative processes of cholesterol in human LDL. *Rivista Italiana Sost Grasse*. 72:285-291
- Cabrera-Soto M.L., Salinas-Moreno Y., Velázquez-Cardelas A., Espinoza-Trujillo E. 2009. Contenido de fenoles solubles e insolubles en las estructuras de grano de maíz y su relación con propiedades físicas. *Agrociencia*.43: 827-839.
- Cajigas Ceron, A. A., Pérez Vidal, Andrea y Torres Lozada, Patricia. 2005. Importancia del pH y la alcalinidad en el tratamiento anaerobio de las aguas residuales del proceso de extracción de almidón de yuca. *Scientia et technica*, 11(27).
- Castellanos D.A., Algecira N.A., Villota C.P. 2011. Aspectos relevantes en el almacenamiento de banano en empaques con atmósferas modificadas. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*. 12 (2):114-134.
- Chaalal M, Louaileche H, Touati N, Bey MB. (2013). Phytochemicals, in vitro antioxidant capacity and antiradical potential of whole and ground seeds of three prickly pear varieties: A comparative study. *Industrial Crops and Products* 49 (2013) 386– 391
- Chavan, J.K., S.S Kadam and D.K Salunke. 1987. "Bioquímica y tecnología de la semilla de garbanzo (*C. arietinum*), *Criticas en la ciencia de los alimentos y nutrición*. China, Beijing, v.9, p.138-146.
- Chiselli A, Serafini M, Maiani G, Azzini E, Ferro-Luzzi A. 1995. A fluorescence-based method for measuring total plasma antioxidant capability. *Free Rad Biol Med*. 18(1):29-36.
- De Miguel Gordillo, E., 1991. El Garbanzo: una alternativa para el secano. *Agroguías mundi prensa*, Madrid, España, pp. 13-25, 33-39, 61-72
- FAO, 2008. Comercialización y Exportación de Garbanzo. Disponible en: <http://www.fao.org>. (Fecha de acceso: 15 de octubre del 2018).
- FAO, 2016 Beneficios nutricionales del garbanzo. Disponible en <http://www.fao.org/3/a-i5384s.pdf> (Fecha de acceso: 20 de octubre del 2018)
- FAO, 2017. Production data. Disponible en: <http://www.fao.org/faostat/en/?#data/QC>. (Fecha de acceso: 28 de octubre de 2018).
- Finkel, T., y Holbrook, N. J. (2000). Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, 408(6809), 239.
- Frimpong A. (2010). A study of chickpea (*Cicer arietinum L.*) seed starch concentration, composition and enzymatic hydrolysis properties. Tesis de doctorado. Universidad de Saskatchewan, Saskatoon.

- 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.
- Gimbun, J, N F Ishak, N I S Muhammad, S F Pang, M A A Kadir, H Ramli, M F Abdullah, Z Gimán, and Z Khadisah. 2014. "Ultrasonic Assisted Extraction Polyphenols and Antioxidant from Nigella Sativa Seed." *Journal of Engineering and Technology* 5 (2):17–26.
- Gimeno, E. 2004. Compuestos fenólicos un análisis de sus beneficios para la salud. *OFFARM*. (23):80-84.
- Gokmen, V., Serpen, A. y Fogliano, V. 2009. Medida directa de la capacidad antioxidante total de los alimentos: el enfoque "QUENCHER". *Tendencias Food science Technology*. 20: 278- 88.
- Greenwald, R. 1990. "Current approaches to the development of oxygen radical scavengers", in *Drugs of Today*. 26, pp. 299-307
- Halliwell, B., y Gutteridge, JM (2015). *Los radicales libres en biología y medicina*. Oxford University Press, EE. UU.
- 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
- Harasym, J.; R. Oledzki. 2014. Effect of fruit and vegetable antioxidants on total antioxidant capacity of blood plasma. *Nutrition*. 30: 511-517
- 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.
- 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.
- Kader, A. 1994. Modified and controlled atmosphere storage of tropical fruits. *Australian Centre for International Agricultural Research Proceedings*, Camberra, v.50, p.239-249.

- Kan, J.; Wang, H.; Jin, C.; Xie, H. 2010. Changes of reactive oxygen species and related enzymes in mitochondria respiratory metabolism during the ripening of peach fruit. *Agricultural Sciences in*
- Konigsberg, F. M. 2008. Radicales libres y estrés oxidativo: aplicaciones médicas. Manual Moderno. México. 623 p.
- Konigsberg Fainstein, M., & Aguilar-Maldonado, B. (2008). *Radicales libres y estrés oxidativo: aplicaciones médicas* (No. Sirsi) i9789707293212).
- Krishnaiah D., Sarbatly R., Nithyanandam R. (2011). A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and Bioproducts Processing*. 89: 217–233.
- Liazid, A., Palma, M., Brigui, J., y Barroso, CG (2007). Investigación sobre la estabilidad de los compuestos fenólicos durante la extracción asistida por microondas. *Diario de cromatografía A*, 1140 (1-2), 29-34.
- López J.A., F.J. Valverde, S.L. Mejía, G. López y M.O. Vega. 2011. Efecto del Almacenamiento en Atmósfera Controlada sobre la Calidad Poscosecha y Nutricional del Tomate, Chapingo Serie Horticultura, ISSN: 1027-152X (en línea) 17(2), 115-128.
- López-García U., Sáyago-Ayerdi S. y Chacón-López A. 2018. Actividad Antioxidante Y Antifúngica In Vitro De Extractos De Carambola (*Averrhoa carambola* L.). XX (2): 104-109
- Marconi, E., Ruggeri, S., Cappelloni, M., Leonardi, D., y Carnovale, E. (2000). Características fisicoquímicas, nutricionales y microestructurales de los garbanzos (*Cicer arietinum* L.) y los frijoles comunes (*Phaseolus vulgaris* L.) después de la cocción en microondas. *Diario de química agrícola y de alimentos*, 48 (12), 5986-5994.
- Martínez-Valverde I, Periago M, Ros G. (2000) Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Arch Latinoam Nutr.*; 50: 5-18.
- 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.K., Martínez-Díaz, G., Núñez-Moreno, J.H., y Fu-Castillo A.A (2004). *Cultivo de garbanzo blanco en Sonora. México: INIFAP-SAGARPA*.
- Muhammad, Z.U.H., Shahid, I., Shakeel, A. Muhammad, I., Abdul N y Bhager, M.I. (2013). Nutritional and compositional study of desi chickpea (*Cicer Arietinum* L.) cultivars grown in Punjab, Pakistan. *Food Chemistry*, 105, 1357-1363).
- Muzquiz, M. y Wood, J.A (2007). Antinutritional factors En: S.S Yadav, R. Redden, W. Chen y B. Sharma (eds.). *Chickpea Breeding and Management*. CAB International.
- 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.

- Oroian, M.; I. Escriche. 2015. Antioxidants characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food Res. Int.* 74: 10-36.
- Ospina Meneses, S., & Cartagena Valenzuela, J. (2008). La atmósfera modificada: una alternativa para la conservación de los alimentos. *Revista Lasallista de Investigación*, 5 (2), 112-123.
- Palamada, J. & Kehrer, J. 1992. "Inhibition of protein carbonyl formation and lipid peroxidation by glutathione in rat liver microsomes", in *Archives of Biochemistry and Biophysics* 293, pp. 103-109.
- Pastene, E. R. (2009). Estado actual de la búsqueda de plantas con actividad antioxidante. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 8(6).
- 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-Jiménez, J., Arranz, S., Taberner, M., Díaz-Rubio, M. E., Serrano, J., Goñi, I., & Saura-Calixto, F. (2008). Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. *Food Research International*, 41(3), 274-285.
- Perez A. y Torres P. (2008). Indices de alcalinidad para el control del tratamiento anaerobio de aguas residuales fácilmente acidificables. *Ingeniería y Competitividad*. 10: 2: 41 – 52.
- Polo Chávez, I. A. (2012). Determinación proximal de los principales componentes nutricionales de seis variedades de leguminosas: arveja, garbanzo, haba, lenteja, maní y soya (Bachelor's thesis, Pontificia Universidad Católica del Ecuador).
- Posada Jaramillo, M., Pineda- Salinas, V. y Agudelo- Ochoa G. M. (2003). *Los antioxidantes de los alimentos y su relación con las enfermedades crónicas*
- 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.
- Pujolà, M., Farreras, A., y Casañas, F. (2007). Contenido de proteína y almidón de frijoles crudos, remojados y cocidos (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chemistry* , 102 (4), 1034-1041.
- Raghavan S., Vaezi A., Fuchs E. (2003). A role for alphabeta1 integrins in focal adhesion function and polarized cytoskeletal dynamics. *Dev. Cell* 5, 415-427
- Ravi,R. (2005) Rheology of chickpea (*Cicer arietinum* L.) flour suspensions and characterisations of fried product-Boondi. Tesis doctoral. Universidad de Mysore, India.
- Reyes-Moreno C., Milán-Carrillo J., Rouzaud-Sandez J., Garzón-Tiznado y Rosalba Mora-Escobedo R. 2002. Descascarillado/Suavización/Extrusión (Dse): Alternativa Tecnológica Para Mejorar La Calidad Nutricional Del Garbanzo (*Cicer arietinum* L.). *Agrociencia* 36: 181-189.

- Rice-evans, CA, Miller, NJ, Bolwell, PG, Bramley, PM, y Pridham, JB (1995). Las actividades antioxidantes relativas de los flavonoides polifenólicos derivados de plantas. *Investigación de radicales libres*, 22 (4), 375-383.
- Ritika B., Baljeet S., Mahima S. y Roshanlal Y. 2016. Suitability of wheat flour blends with malted and fermented cowpea flour for noodle making. *International Food Research Journal* 23(5): 2193-2202.
- Roginsky V., Lissi E.A. (2005). Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry*. 92(2): 235–254.
- Rubio, L. A., Grant, G., Dewey, P., Brown, D., Annand, M., Bardocz, S., & Pusztai, A. (1998). Nutritional utilization by rats of chickpea (*Cicer arietinum*) meal and its isolated globulin proteins is poorer than that of defatted soybean or lactalbumin. *The Journal of nutrition*, 128(6), 1042-1047.
- 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 2018).
- Salunkhe, DK, y Kadam, SS (1989). El manual de Crc de las leguminosas de la alimentación mundial: química nutricional, tecnología de procesamiento y utilización.
- Sánchez M., S. Gorinstein, O. Martín, H. Astiazarán, G. González y R. Cruz. 2007. Frutos Tropicales Mínimamente Procesados: Potencial Antioxidante y su Impacto en la Salud, *Interciencia*, ISSN: 0378-1844, 32(4), 227-232
- 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.
- Sharma, OP, y Bhat, TK (2009). Análisis de antioxidantes DPPH revisado. *Química de los alimentos*, 113 (4), 1202-1205.
- Silva-Cristóbal, L., Osorio-Díaz, P., Tovar, J., y Bello-Pérez, LA (2010). Composición química, digestibilidad de carbohidratos y capacidad antioxidante de frijoles negros cocidos, garbanzos y lentejas. Variedades mexicanas Composición química, digestibilidad de carbohidratos y capacidad antioxidante de variedades mexicanas cocidas de frijol negro, garbanzo y lenteja. *Cyta – Journal of Food*, 8 (1), 7-14.
- 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
- Suja, KP, Jayalekshmy, A., y Arumughan, C. (2004). Comportamiento de captación de radicales libres de compuestos antioxidantes del sésamo (*Sesamum indicum* L.) en el sistema DPPH. *Diario de química agrícola y alimentaria*, 52 (4), 912-915.

- Tenorio LFA, del Valle ML, Pastelín HG. 2006. Los flavonoides y el sistema cardiovascular: ¿Pueden ser una alternativa terapéutica? *Arch Cardiol Mex* 76 (S4)
- Thornalley, P.J., Vasak, M. 1985. "Possible role for metallothionein in protection against radiation-induced oxidative stress. Kinetics and mechanism of its reaction with superoxide and hydroxyl radicals", en *Biochimica et Biophysica Acta* 827, pp. 36-44.
- Topping. D.L y P.M Clifton (2001). Short-Chain Fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. *Physiological Reviews*. 81, 1031-1064.
- Vázquez H. y Dacosta O. 2007. Fermentación alcohólica: Una opción para la producción de energía renovable a partir de desechos agrícolas. *INGENIERÍA Investigación y Tecnología VIII*. 4: 249-259.
- Vavilov, N. I. (1926). Studies on the origin of cultivated plants.
- Vilkhu, K., Mawson, R., Simons, L., y Bates, D. (2008). Aplicaciones y oportunidades para la extracción asistida por ultrasonido en la industria alimentaria: una revisión. *Ciencia innovadora de alimentos y tecnologías emergentes*, 9 (2), 161-169.
- Vicent M.C., Álvarez S., Zaragoza J.L. 2006. Química industrial y orgánica. Valencia: Universidad Politécnica de Valencia.
- Von Gadov A., Joubert E., Hansmann C. F. (1997). Comparison of the antioxidant activity of aspalathin with that of other plant phenols of Rooibos tea (*Aspalathus linearis*), α -tocopherol, BHT, and BHA. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 45(1): 632-638.
- Waghmare, R. B., Mahajan, P. V. y Annapure, U. S. 2013. Modelling the effect of time and temperature on respiration rate of selected fresh-cut produce. *Postharvest Biology and Technology*, Amsterdam, v.80, p.25-30.
- Wang W., C. Chen, J. Ning y H. Wang. 2011. The Effect of Controlled Atmosphere Storage on Aroma Components of Hami Melon, International Conference on New Technology of Agricultural Engineering, 764-768.
- 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.
- Willet, W.C. (1994). Diet and health: what should we eat? *Science*, 264,532- 537
- Wood, J.A y Grusak, M.A (2007). Nutritional value of chickpea (págs.. 121-132). En: S.S Yadav, R. Redden, W. Chen y B. Sharma (eds.) Chickpea Breeding and Management. CAB International
- Xoca-Orozco, L. A., Zamora-Gasga, V., Espinosa-Alonso, G., Velázquez-Estrada, R. M., López-García, U., Sáyago-Ayerdi, S., & Chacón-López, A. (2018). ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y

ANTIFÚNGICA IN VITRO DE EXTRACTOS DE CARAMBOLA (*Averrhoa carambola* L.). *Biotecnia*, 20(2), 104-109.

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.

Yokozawa T., Chen C.P., Dong E., Tanaka T., Nonaka G.-I., Nishioka I. 1998. Study on the inhibitory effect of tannins and flavonoids against the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Biochemical Pharmacology*. 56(2): 213–222.