

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO



Polifenoles y Capacidad Antioxidante de Germinados de Frijol (*Phaseolus vulgaris*)

Por:

JAVIER LÓPEZ CRUZ

TESIS

Presentado como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Saltillo, Coahuila, México

Diciembre, 2022

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

Polifenoles y Capacidad Antioxidante de Germinados de Frijol (*Phaseolus vulgaris*)

Por:

JAVIER LÓPEZ CRUZ

TESIS

Presentado como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

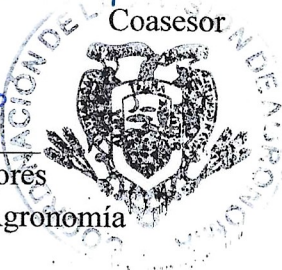
Aprobada por el Comité de Asesoría:

Dr. Josué Israel García López
Asesor Principal

Dra. Norma Angélica Ruiz Torres
Coasesor

Dr. Neymar Camposeco Montejo
Coasesor

Dr. Jerónimo Landeros Flores
Coordinador de la División de Agronomía



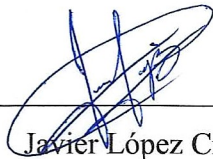
Saltillo, Coahuila, México
Diciembre, 2022

DECLARACIÓN DE NO PLAGIO

El autor quien es el responsable directo, jura bajo protesta de decir verdad que no se incurrió en plagio o conducta académica incorrecta en los siguientes aspectos:

Reproducción de fragmentos o textos sin citar la fuente o autor original (corta y pega); reproducir un texto propio publicado anteriormente sin hacer referencia al documento original (auto plagio); comprar, robar o pedir prestados los datos o la tesis para presentarla como propia; omitir referencias bibliográficas o citar textualmente sin usar comillas; utilizar ideas o razonamientos de un autor sin citarlo; utilizar material digital como imágenes, videos, ilustraciones, graficas, mapas o datos sin citar al autor original y/o fuente, así mismo tengo conocimiento de que cualquier uso distinto de estos materiales como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por las autoridades correspondientes. Por lo anterior me responsabilizo de las consecuencias de cualquier tipo de plagio en caso de existir y declaro que este trabajo es original.

Pasante



Javier López Cruz

AGRADECIMIENTOS

A **Dios** por guiar, cuidar e iluminar mi camino en cada etapa. Por culminar con éxito mi carrera, por brindarme salud y fortaleza. Gracias.

A **la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN)**, por ser mi segundo hogar, y brindarme la experiencia de haber pertenecido a tan reconocida institución. Por brindarme los conocimientos necesarios para forjarme como un profesionalista. Gracias.

A **mi madre Karola Yasmín**, por siempre brindarme su apoyo y confianza en esta etapa para poder superarme; sin ella, no habría sido posible. Gracias.

A **mis abuelos, Javier López e Hilaria Cruz** por la confianza y apoyo incondicional que me brindaron desde un inicio.

A **mis maestros**, por compartirme sus conocimientos y experiencias. Gracias.

A **mi asesor el Dr. Josué Israel**, quien me brindó la oportunidad y confianza para desarrollar el presente tema de tesis, gracias por todo el apoyo y conocimientos brindados. Gracias.

A **mis amigos Jesús Raúl, María Teresa, Selene Yazmín** por hacer esta etapa más ligera, por cada risa, momento y lección compartida, siempre los llevare en mi corazón. Gracias.

DEDICATORIA

A mi madre Karola Yasmín, por ser el mayor ejemplo que seguir, mi pilar, mi motor. Por todos los sacrificios, esfuerzos y enseñanzas; gracias por apoyarme desde un inicio en esta etapa, por creer en mí en todo momento y por motivarme a superar día con día cada reto. Lo logramos.

A mis abuelos Javier López e Hilaria Cruz, quienes me han apoyado y han estado pendientes de mí en esta trayectoria. Por sus bendiciones y buenos deseos.

A mi amigo hermano, Jesús Raúl por cada momento compartido y por todo el apoyo que me brindaste en esta etapa.

¡Con afecto y respeto, Javier López Cruz!

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	I
DEDICATORIA.....	II
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDO	III
ÍNDICE DE CUADROS	V
ÍNDICE DE FIGURAS	VI
RESUMEN	VII
INTRODUCCIÓN.....	1
Hipótesis	2
Objetivo general.....	2
REVISIÓN DE LITERATURA	3
Importancia del contenido nutricional y nutracéutico del frijol	3
Germinados.....	4
Importancia de los antioxidantes	4
Antioxidante.....	4
Capacidad antioxidante/estrés oxidativo	5
Compuestos fenólicos	5
Flavonoides.....	7
Técnicas para determinar capacidad antioxidante	8
Método DPPH.....	8
Método ABTS.....	9
Método FRAP.....	10
MATERIALES Y MÉTODOS.....	11
Material genético	11
Germinación de semillas.....	11
Extracción de polifenoles.....	11
Determinación de la concentración de fenoles y flavonoides totales	12
Ensayos de capacidad antioxidante.....	12
Diseño experimental y análisis estadístico	12
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	13

Concentración de polifenoles y capacidad antioxidante.....	13
Concentración de fenoles totales	14
Flavonoides totales	15
DPPH	16
ABTS	17
FRAP	18
CONCLUSIONES.....	19
REFERENCIAS	20

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Composición química del grano de frijol común.....	3
Cuadro 2. Clasificación general de los compuestos polifenólicos (CPF).....	7
Cuadro 3. Clasificación de los flavonoides.....	8

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química del fenol.....	6
Figura 2. Estructura química del radical libre metaestable DPPH.....	9
Figura 3. Estructura química del ABTS.....	9

RESUMEN

El objetivo del trabajo de investigación fue determinar la concentración de polifenoles y las propiedades de capacidad antioxidante en germinados de frijol de diferentes genotipos. Las semillas de frijol se colocaron en papel Anchor para generar los germinados, cuatro días después de la siembra se detuvo el crecimiento del germinado para proceder con el secado de la plántula y la extracción de polifenoles en la materia seca acumulada. Los resultados indican que la concentración de fenoles totales vario de 670.69 a 921.54 mg GAE/100 g, mientras que la de flavonoides totales presentó valores de 259.9 a 1645.9 mg GAE/100 g. En cuanto a la capacidad antioxidante para DPPH se presentaron rangos de 1402.17 a 1987.98 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$, ABTS de 9155.7 a 10346.8 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$, y FRAP con 4891.1 a 2,932.2 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$. Los resultados obtenidos indican una amplia variación en la concentración de polifenoles y capacidad antioxidante entre los germinados de los diferentes genotipos de frijol.

Palabras clave: Germinados de frijol, fenoles totales, flavonoides totales, capacidad antioxidante.

INTRODUCCIÓN

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es la leguminosa más importante para consumo humano a nivel mundial, ya que es una fuente importante de proteína, calorías, vitaminas del complejo B y minerales (Fernández Valenciano *et al.*, 2017). Además, esta leguminosa es rica en cuanto a la concentración de compuestos bioactivos como polifenoles, lecitinas, etc., además dentro de sus actividades biológicas están la capacidad antioxidante, la reducción de colesterol y lipoproteínas, que tiene un efecto protector contra enfermedades cardiovasculares (Suárez-Martínez *et al.*, 2016).

No obstante, el consumo de frijol se realiza por el consumidor final una vez que este ha pasado por un proceso térmico de cocción, lo cual deteriora en gran medida la concentración de compuestos bioactivos. Sin embargo, a pesar de que para nuestro país el frijol es uno de los alimentos más importantes en la dieta básica, se enfrenta a modificaciones importantes ante una sociedad cambiante, incluidos los hábitos alimenticios, a consecuencia del urbanismo, la migración y el empleo (Lara-Flores, 2015). En los últimos años, se ha visto un incremento en la demanda de leguminosas en el mercado nacional e internacional, habiéndose incorporado como *Novo* productos los germinados.

Los germinados, son de los pocos productos alimenticios que consumen cuando se encuentran en la etapa de germinación, y cobran importancia alimenticia por el balance dietético y la composición química (Sikin *et al.*, 2013). Por ejemplo, los germinados de brócoli alcanzan valores nutritivos 100 veces más que las plantas en estados fenológicos de madurez (Hinojosa-Dávalos *et al.*, 2019). Específicamente, en los germinados se puede encontrar una alta concentración de compuestos fenólicos del tipo flavonoide, vitamina A, C, E y K, además de hierro, calcio y potasio (Moreno *et al.*, 2012; Manchali *et al.*, 2012).

Investigaciones recientes demuestran que los germinados de lenteja y quinua poseen importantes propiedades de compuestos bioactivos como los fenoles totales, lo que les brinda una alta capacidad antioxidante (Solorzano Sánchez *et al.*, 2018). Sin embargo, se desconoce

la proporción del contenido de compuestos bioactivos en germinados de frijol que actualmente se producen en el Noreste de Coahuila, los cuales podrían ser una fuente importante de antioxidantes a un bajo costo. Por lo anterior, este trabajo de investigación estableció determinar la concentración de polifenoles y las propiedades de capacidad antioxidante en germinados de frijol de diferentes genotipos.

Hipótesis

H₀: La concentración de fenoles, flavonoides totales y capacidad antioxidante (DPPH, ABTS y FRAP) de los germinados de frijol presentará diferencias entre genotipos.

H₁: La concentración de fenoles, flavonoides totales y capacidad antioxidante (DPPH, ABTS y FRAP) de los germinados de frijol no presentará diferencias entre genotipos.

Objetivo general

Determinar la concentración de fenoles, flavonoides totales y capacidad antioxidante (DPPH, ABTS y FRAP) de germinados de frijol de diferentes genotipos.

REVISIÓN DE LITERATURA

Importancia del contenido nutricional y nutracéutico del frijol

El frijol posee propiedades nutritivas relacionadas con un alto valor proteico y en menor medida por su aporte de carbohidratos, vitaminas y minerales. Dependiendo la variedad, el contenido de proteína puede ser de 14 a 33 %, llegando a ser rico en aminoácidos como la lisina, fenilalanina más tirosina; en lo que a carbohidratos respecta pueden presentarse valores de 52 a 76 g por cada 100 g de material crudo (Ulloa *et al.*, 2011).

Además, se reconocen fitoquímicos como la fibra, polifenoles, ácido fólico, taninos, inhibidores de tripsina, y lectinas; dichas propiedades ayudan a disminuir el colesterol en la sangre, disminuir la síntesis hepática del colesterol, así como cierta protección contra rotavirus, inhibiendo las carcinogénesis; pueden apoyar en la disminución del crecimiento de linfomas no-Hodking y utilizarse como marcadores de tumores; también, se consideran antioxidantes, anticancerígenos y anti-mutágenos (Ulloa *et al.*, 2011).

Componente	Composición	Componente	Composición
Agua (g/100 g)	59.8	Fitatos (mg/g)	13.82 ± 0.57
Energía (Kcal/ 100 g)	110.3	Taninos (mg/g)	13.78 ± 0.57
		Minerales(mg/100 g)	
Proteína (g)	18.4 ± 0.1	Potasio	1424.3
Lípidos (g)	2.3 ± 0.0	Calcio	5.2
ac. grasos saturados (g)	0.22	Magnesio	92.3
ac. grasos monosaturados (g)	0.09	Zinc	2.23
ac. grasos poliinsaturados (g)	0.68	Hierro	6.21
colesterol (mg/100 g)	0	Fosforo	332.12
Cenizas (g)	0.6 ± 0.0	Sodio	43.67
Carbohidratos (g)	64.7	Cobre	0.6
Fibra dietaria total (% materia seca)	27	Manganeso	1.11
Fibra soluble	4.5	Selenio	3.96
Fibra insoluble	22.6	Vitaminas (mg/100 g)	
Almidón resistente	2.6	Vitamina C	8.93
Almidón total (% materia seca)	42.9	Tiamina	0.56
Oligosacáridos (g/100 g)		Riboflavina	0.24
Rafinosa	0.40 ± 0.03	Niacina	1.76
Estaquirosa	3.23 ± 0.18	Vitamina B-6	0.34
Verbascosa	0.12 ± 0.01	Vitamina A	0.21

Cuadro 1. Composición química del grano de frijol común.
Información por Denis Herrera, 2018.

Germinados

Los germinados son alimentos que proveen fitonutrientes como glucosinolatos, fenoles e isoflavonas, así como vitaminas y minerales; este tipo de beneficios puede depender de factores como el tipo de germinado, semillas y las condiciones de germinación. Dichos alimentos están teniendo una alta demanda debido a los beneficios para la salud que posee; ahora, sumado a que el germinado es un proceso fácil, rápido, económico y de fácil incorporación en los alimentos de todas las culturas del mundo (Fontanive *et al.*, 2021).

Son productos frescos cuyo consumo es en crudo, estos se usan para agregar sabor a ciertos alimentos; aunado a ellos, cuentan con una amplia variedad de nutrientes, pero a menos que se usen los equipos y procesos adecuados para su cultivo, puede ocurrir contaminación de tipo microbiana. Por tal motivo la FDA sugiere la cocción de dichos alimentos, así como su consumo no debe de ser permitido en personas con un sistema inmunológico comprometido (Sinkel *et al.*, 2015).

Actualmente son alimentos que poseen muchos beneficios nutricionales y se han ido dando a conocer cada vez más, a modo que cada vez es más común verlos integrados en diversos tipos de alimentos o comidas populares. Es en el proceso de germinación de la semilla donde esta cambia sus propiedades, ya que se modifica la cantidad de aminoácidos, algunos aumentan o disminuyen (Tafese Awulachew, 2002).

Importancia de los antioxidantes

Un antioxidante posee la capacidad para inhibir la degradación de tipo oxidativa, a modo que este actúa ya que posee la capacidad de reaccionar con radicales libres, llamándose antioxidante terminador de cadenas (Londoño Londoño, 2012).

Antioxidante

Un antioxidante es un compuesto químico que nuestro cuerpo puede usar para la eliminación de los radicales libres, ya que estos se encargan de introducir oxígeno en las células y provocan la oxidación de diferentes partes, alteraciones en nuestro ADN y otros cambios que provocan el envejecimiento de nuestro cuerpo. El cuerpo humano es capaz de generar

radicales libres para su propio uso como lo puede ser el control de la musculatura, la eliminación de bacterias, etc.; pero a su vez, se generan antioxidantes para eliminar los radicales libres excedentes, ya que estas sustancias son invasivas (Ramírez *et al.*, 2012).

La oxidación celular ocurre cuando algún átomo inestable pierde un electrón (carga negativa), permitiendo la formación de un nuevo compuesto con otro elemento, lo cual provoca un desequilibrio entre la producción de especies reactivas del oxígeno y la capacidad de algún sistema biológico para limpiar el organismo de sustancias nocivas. El oxígeno que respiramos produce ciertos radicales libres, los cuales se forman normalmente al metabolizar dicho oxígeno; pero es el mismo cuerpo humano el que se encarga de establecer un correcto equilibrio en dichas partículas, pero cuando se ve alterado dicho equilibrio, se puede producir el estrés oxidativo debido al excedente de especies reactivas de oxígeno (Ramírez *et al.*, 2012).

Capacidad antioxidante/estrés oxidativo

El estrés oxidativo lo podemos definir como el desequilibrio que ocurre entre la generación de especies reactivas de oxígeno/nitrógeno y la capacidad que poseen las células para neutralizarlas mediante una defensa de tipo antioxidante (Persson, *et al.*, 2014).

Compuestos fenólicos

Un compuesto fenólico es una molécula que posee uno o más anillos aromáticos o bencénicos, mediante los cuales se encuentran adheridos uno o varios grupos hidroxilos. Al poseer moléculas que tienen actividades biológicas de tipo antioxidantes, antidiabéticas, anticancerígenas, antiinflamatorias, analgésicas, vasodilatadoras, antidepresivas, antihipertensivas, antitrombóticas, anticoagulantes, antimicrobianas, antienvjecimiento, anti alergénicas y contra la osteoporosis, resultan de gran ayuda en la ciencia y en el ámbito farmacéutico (Abarca-Vargas y Petricevich L, 2018).

En los seres humanos conforme se acrecienta su edad, es muy común observar enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas y cancerígenas, lo cual se debe al estrés oxidativo, que no es más que un estado en el que la velocidad con la que se generan moléculas de tipo radicales libres excede la capacidad de defender al cuerpo humano de las mismas, lo cual produce daños oxidativos de moléculas como carbohidratos, lípidos, proteínas y nucleótidos, a modo que estas oxidaciones se manifiesten en enfermedades para el ser humano. Para

contrarrestar de manera natural este tipo de padecimientos, es aconsejado el consumo de alimentos que presentan compuestos fenólicos como los antioxidantes; ya que estas sustancias retrasan, previenen o anulan de manera significativa la oxidación de otras sustancias por la acción de los radicales libres (Abarca-Vargas y Petricevich L, 2018).

Un fenol está formado por un anillo aromático (fenil) unido a un grupo hidroxilo (OH) (Figura 1). Por lo cual los compuestos fenólicos son moléculas que presentan uno o más grupos hidroxilos unidos a anillos aromáticos. Dichos compuestos se encuentran en las plantas y se clasifican en diferentes grupos; estos compuestos son importantes en diversas funciones metabólicas de las plantas, en su crecimiento, reproducción e incluso protección contra agentes externos (Peñarrieta *et al.*, 2014).

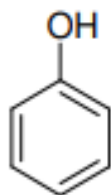


Figura 1. Estructura química del fenol

Los compuestos poli fenólicos son metabolitos de tipo secundario que poseen las plantas, estos compuestos deben tener en su estructura al menos un anillo aromático que se encuentra a su vez unido con uno o más grupos de tipo hidroxilo; debido a las diversas estructuras que se pueden encontrar en la naturaleza se forman diversos grupos. (Figura 2). Estos compuestos son biológicamente activos y existe evidencia científica que respalda el hecho de que proporcionar un beneficio al organismo en contra de diversas enfermedades. Entre sus propiedades esta la protección contra lesiones celulares y subcelulares, inhibición de crecimiento de tumores, activación de los sistemas de detoxificación hepáticos y bloqueo de las vías metabólicas (Mercado-Mercado *et al.*, 2013).

Clasificación general de los compuestos polifenólicos (CPF)					
Clase	Estructura	Ejemplo	Clase	Estructura	Ejemplo
Fenoles simples	C ₆	 Catecol	Ácidos hidroxibenzoicos	C ₆ -C ₁	 Ácido gálico
Ácidos fenilacéticos	C ₆ -C ₂	 Ácido 2-hidroxi-fenilacético	Naftoquinonas	C ₆ -C ₄	 Menadiona
Ácidos hidroxicinámicos	C ₆ -C ₃	 Ácido caféico	Xantomas	C ₆ -C ₁ -C ₆	 Mangostina
Estibenos	C ₆ -C ₂ -C ₆	 Resveratrol	Flavonoides	(C ₆ -C ₃ -C ₆)	 Quercetina

Cuadro 2. Clasificación general de los compuestos poli fenólicos (CPF)

Fuente: Mercado-Mercado *et al.*, 2013





Flavonoides

Los flavonoides son sustancias que poseen un bajo peso molecular que producen casi todas las plantas vasculares (Estrada-Reyes *et al.*, 2012).

Estos compuestos se encuentran en diversos vegetales, semillas, frutas y bebidas; identificándose más de 5,000 flavonoides distintos. La ingesta promedio es de 23 mg/día. Muchas investigaciones han demostrado la presencia de efectos antiinflamatorios, antivirales, y una función protectora contra enfermedades cardiovasculares, diversos tipos de cáncer, entre otras patologías (Martínez-Flores *et al.*, 2002).

Son compuestos biológicamente activos que se encuentran distribuidos en la naturaleza; su ingesta está relacionada con un menor riesgo de cáncer, enfermedades cardiovasculares e inflamatorias en los seres humanos (Haytowitz *et al.*, 2002).

Estos se pueden clasificar en cinco clases en función a su estructura química:

Nombre	Descripción	Ejemplo	Estructura
Antocianidinas	Tiene un grupo –OH unido en posición 3, pero además poseen un doble enlace entre los carbonos 3 y 4 del anillo C	Antocianidina	
Flavanos	Con un grupo –OH en posición 3 del anillo C	Catequina	
Flavonas	Poseen un grupo carbonilo en posición 4 del anillo C y carecen del grupo hidroxilo en posición C3	Diosmetina	
Flavonoles	Grupo carbonilo en posición 4 y un grupo –OH en posición 3 del anillo C	Quercetina	

Cuadro 3. Clasificación de los flavonoides

Fuente: Escamilla *et al.*, 2009.

Técnicas para determinar capacidad antioxidante

Para determinar la capacidad antioxidante de algún compuesto biológico se requiere de ciertos métodos, estos se basan en la comprobación de como un agente oxidante induce daño oxidativo en un sustrato de tipo oxidable; este tipo de daños son reducidos siempre y cuando se encuentre un agente antioxidante. Para ello se puede hacer uso de métodos como el 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH·), el 2,2'-azinobis-(ácido-3 etilbenzotiazolino-6-sulfonico) diamonio (ABTS·+) o bien, la habilidad del plasma para reducir las sales férricas (FRAP, por sus siglas en inglés) donde el Fe²⁺ y el H₂O₂ en la reacción redox produce el radical OH. Donde a continuación se presenta una breve descripción de estos (Quintanar Escorza y Calderón Salinas, 2009).

Método DPPH

Este método se encarga de evaluar el potencial antioxidante que posee algún compuesto, extracto u otro tipo de fuentes biológicas; es considerado el método más simple en el que el compuesto o prueba a analizar, se mezcla con una solución de DPPH (Difenil Picril Hidrazilo) y la asimilación se observa después de cierto tiempo. Entonces, cuando mezclamos una solución de DPPH con una sustancia que puede donar átomos de hidrogeno, da lugar a un violeta de tono intenso (Kedare B & Singh P., 2011).

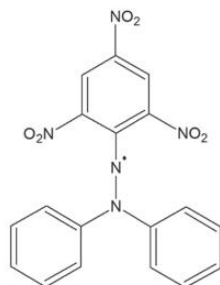


Figura 2. Estructura química del radical libre metaestable DPPH
Fuente: Londoño Londoño, 2012.

Método ABTS

Este método se fundamenta en la capacidad de un antioxidante para estabilizar un radical (ABTS), el cual se debió de haber formado antes por la oxidación por meta mioglobina y peróxido de hidrogeno. Sus resultados se expresan como TEAC o equivalentes de Trolox. Muchos valores de diversas fuentes biológicas ya han sido reportados, por lo cual es fácil hacer comparaciones (Londoño Londoño, 2012).

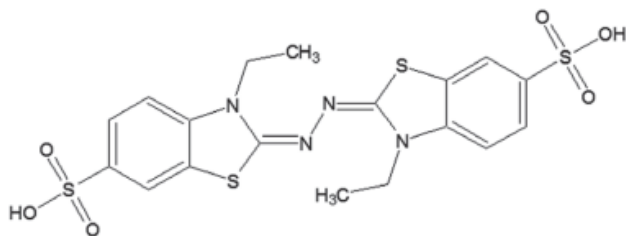


Figura 3. Estructura química del ABTS
Fuente: Londoño Londoño, 2012.

Método FRAP

Este método tiene sus bases en la reducción del hierro férrico que se encuentra presente en el reactivo FRAP hasta forma ferrosa debido a la presencia de antioxidantes. FRAP = Buffer ácido acético-acetato de sodio, TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina) y FeCl_3 (Rioja *et al.*, 2018).

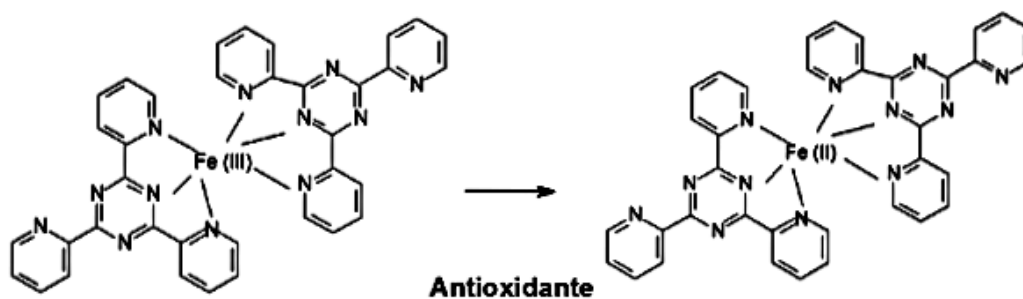


Figura 4. Proceso de oxidación

MATERIALES Y MÉTODOS

Material genético

Las semillas de los genotipos de frijol (G40-01, G36-02, G37-03, G38-04, G30-05, G55-06, G52-07, G10-08, G9-09) pertenecen al germoplasma que resguarda el Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Granos y Semillas (CCDTS) de la UAAAN.

Germinación de semillas

La germinación de las semillas de frijol se llevó a cabo en hojas de papel Anchor, las cuáles fueron humedecidas con agua destilada a saturación, para posteriormente sembrar 25 semillas de cada genotipo, enseguida se enrollaron en “forma de taco” y se colocaron aleatoriamente en una bolsa de polietileno transparente dentro de una canastilla, esta se mantuvo en una cámara germinadora Lab-line Instruments a una temperatura de 25° C y 80 % de humedad. Al cuarto día después de la siembra, los germinados de frijol fueron retirados del papel Anchor, y enseguida el germinado (plántula) fue llevada a secado a 50 °C por 48 h para eliminar el contenido de humedad y proceder a la extracción de polifenoles en la acumulación de materia seca.

Extracción de polifenoles

La acumulación de materia seca de cada germinado se utilizó para hacer la extracción de polifenoles. Para ello, se pesaron 0.2 g de muestra, los cuales fueron suspendidos con 3 mL de metanol al 80%, se purgaron durante 30 s con argón y se agitaron durante 2 h a 200 rpm en oscuridad. Después, las muestras se centrifugaron a 5000 rpm durante 5 min y el sobrenadante fue recuperado y almacenado a -20 °C.

Determinación de la concentración de fenoles y flavonoides totales

Las determinaciones de fenoles totales, flavonoides totales y los ensayos de capacidad antioxidante se midieron en un espectrofotómetro Thermo Spectronic BioMate3 (Rochester, NY, USA), de acuerdo con lo establecido por López-Contreras *et al.* (2015). La determinación del contenido de fenoles totales se realizó mediante el reactivo de Folin-Ciocalteu, utilizando ácido gálico como patrón para la curva de calibración (0 a 200 mg/L). La absorbancia de las muestras se midió a 750 nm, y los resultados se expresaron como miligramos de ácido gálico equivalente por cien gramos de muestra (mg GAE/100 g). La determinación del contenido de flavonoides totales se basó en la reacción del complejo de cloruro de aluminio e hidróxido de sodio, utilizando como estándar de referencia (+)-catequina a una concentración de 0 a 200 mg/L. La absorbancia de las muestras se midió a 510 nm y el resultado se reportó como miligramos equivalentes de (+)-catequina por 100 gramos de muestra (mg CE/100 g).

Ensayos de capacidad antioxidante

Los ensayos de capacidad antioxidante para ABTS (2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)), DPPH (2,2-difenil-1-picrylhydrazyl) y FRAP (ferric reducing antioxidant power) se realizaron de acuerdo con Camposeco-Montejo *et al.* (2021). Los resultados fueron reportados en micromoles de Trolox (Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico) equivalentes por cien gramos de muestra ($\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$), tomando como referencia la curva de calibración de Trolox (0 a 500 $\mu\text{mol/L}$).

Diseño experimental y análisis estadístico

En ensayo de germinados de frijol se estableció bajo un diseño completamente al azar con tres repeticiones para cada genotipo. Los resultados se analizaron en el paquete estadístico SPSS versión 21.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA), con una prueba comparación de medias de Tukey ($p \leq 0.05$). Los resultados se informaron como valores medios de tres repeticiones \pm desviación estándar.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Concentración de polifenoles y capacidad antioxidante

El análisis de varianza mostró diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre genotipos (Cuadro 1) para las variables de polifenoles y capacidad antioxidante (FEN TL, FLAV TL, DDPH, ABTS, y FRAP), esto indica que los genotipos evaluados presentaron diferentes concentraciones para polifenoles y capacidad antioxidante.

Cuadro 1. Cuadrados medios del análisis de varianza para el contenido de fenoles totales, flavonoides totales y propiedades antioxidantes en germinados de frijol de diferentes genotipos.

FV	GL	FEN TL (mg GAE/100 g)	FLAV TL (mg CE/100 g)	DDPH (μ mol TE/100 g)	ABTS (μ mol TE/100 g)	FRAP (μ mol TE/100 g)
Fenotipos	8	24828.97 **	593550.15 **	99592.86 **	394088.29 *	832533.31 **
Error	18	4378.58	38454.10	11305.49	157566.96	137776.15
C V (%)	26	8.33	20.43	5.89	3.95	9.73

*, ** = Significativo al 0.05 y 0.01 niveles de probabilidad, respectivamente: FV = Fuentes de variación: GL = Grados de libertad: CV = Coeficiente de variación: FEN TL = Fenoles totales: FLAV TL = Flavonoides totales: DPPH = 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl: ABTS = 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid): FRAP = poder antioxidante reductor férrico.

Enseguida, se presentan los resultados de la comparación de medias para la concentración de polifenoles y capacidad antioxidante.

Concentración de fenoles totales

La concentración de fenoles totales mostró valores que variaron de 670.69 a 921.54 mg GAE/100 g (Figura 1). La mayor concentración se presentó en los genotipos G36-02 y G38-04, con concentraciones de 921.54 y 882.25 mg GAE/100 g, mientras que la menor concentración se presentó en el genotipo G8-09 con 670.69 mg GAE/100 g. Resultados superiores han sido reportados en germinados de genotipos de amaranto, con concentraciones 1994 a 3550 GAE/100 g (Aguilar Felices y Romero Viacava, 2018). Además, importante es mencionar que los germinados de leguminosas presentan una mayor concentración de fenoles totales al compararlo con el grano sin germinar (Aguilar Felices y Romero Viacava, 2018; Rochín-Medina *et al.*, 2021).

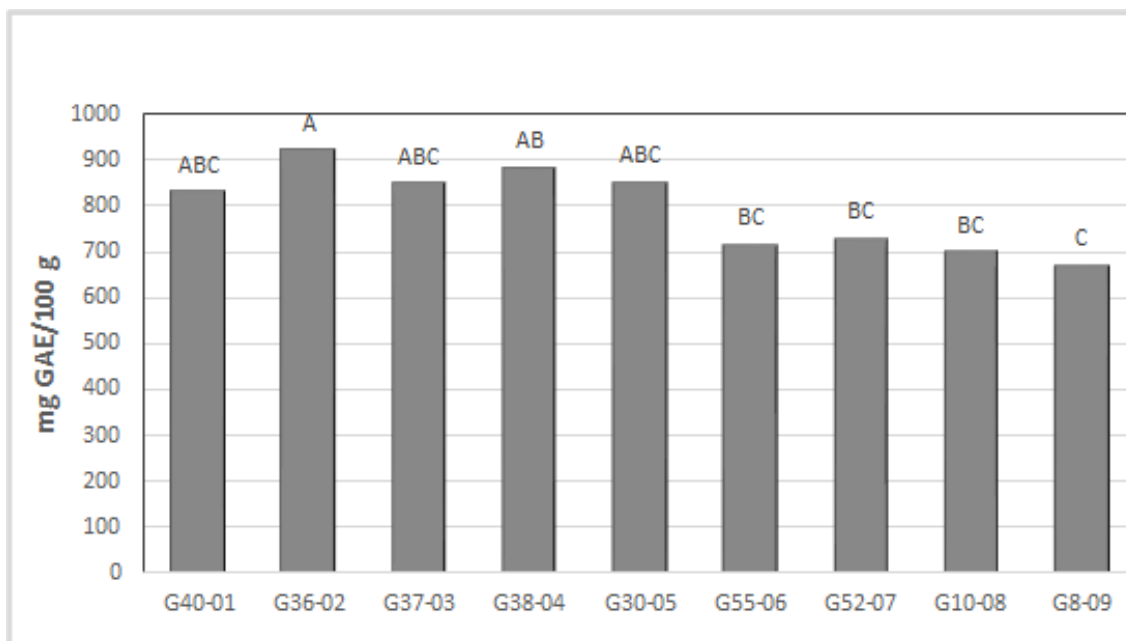


Figura 1. Concentración de fenoles totales en genotipos de frijol. Los valores son el promedio de tres repeticiones. Medias ($n = 3$). Las barras representan la desviación estándar de la media. Letras diferentes en cada barra significan que los genotipos fueron estadísticamente diferentes (Tukey, $p \leq 0.05$).

Flavonoides totales

En los resultados de la comparación de medias la concentración de flavonoides totales presentó valores de 259.9 a 1645.9 mg GAE/100 g (Figura 2). La mayor concentración se dio en los genotipos G30-05, G38-04 Y G55-06, con concentraciones de 1645.9, 1330.3 y 1325 mg GAE/100 g, mientras tanto en la menor concentración se presentó el genotipo G40-01 con 259.9 mg GAE/100 g. Los germinados de alfalfa presentan una concentración promedio de flavonoides de 246.63 mg GAE/100 g (Pérez Vega *et al.*, 2018), lo que indica que los germinados de frijol evaluados en este estudio tienen una mayor concentración de compuestos nutraceuticos benéficos para el ser humano.

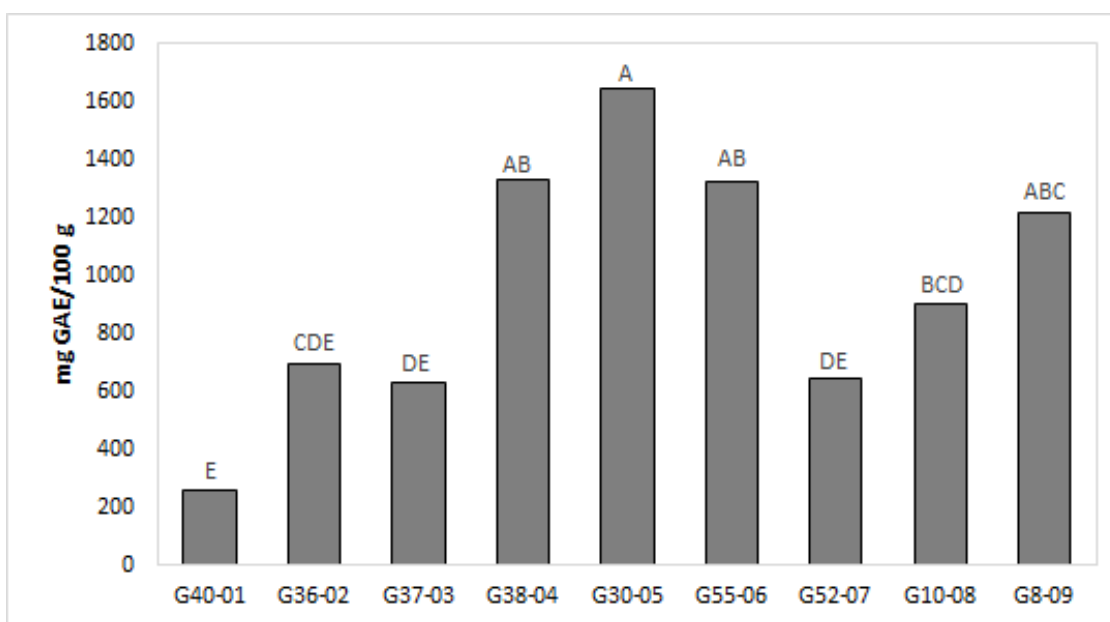


Figura 2. Concentración de flavonoides totales en genotipos de frijol. Los valores son el promedio de tres repeticiones. Medias (n = 3). Las barras representan la desviación estándar de la media. Letras diferentes en cada barra significan que los genotipos fueron estadísticamente diferentes (Tukey, $p \leq 0.05$)

DPPH

La capacidad antioxidante para DPPH presentó valores que varían entre 1402.17 a 1987.98 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$ (Figura 3), la mayor concentración se dio en el genotipo G40-01 con una concentración de 1987.98 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$, mientras tanto la menor capacidad antioxidante se dio en el genotipo G8-09 con 1402.17 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$. En un informe elaborado por Aguilar Felices y Romero Viacava (2018), se determinó la capacidad antioxidante por DPPH en germinados de amaranto, con un rango 284 a 1330 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$, En general, los germinados de frijol presentan una mayor capacidad antioxidante para este método al compararlos con otras leguminosas como el *Amaranthus caudatus* L.

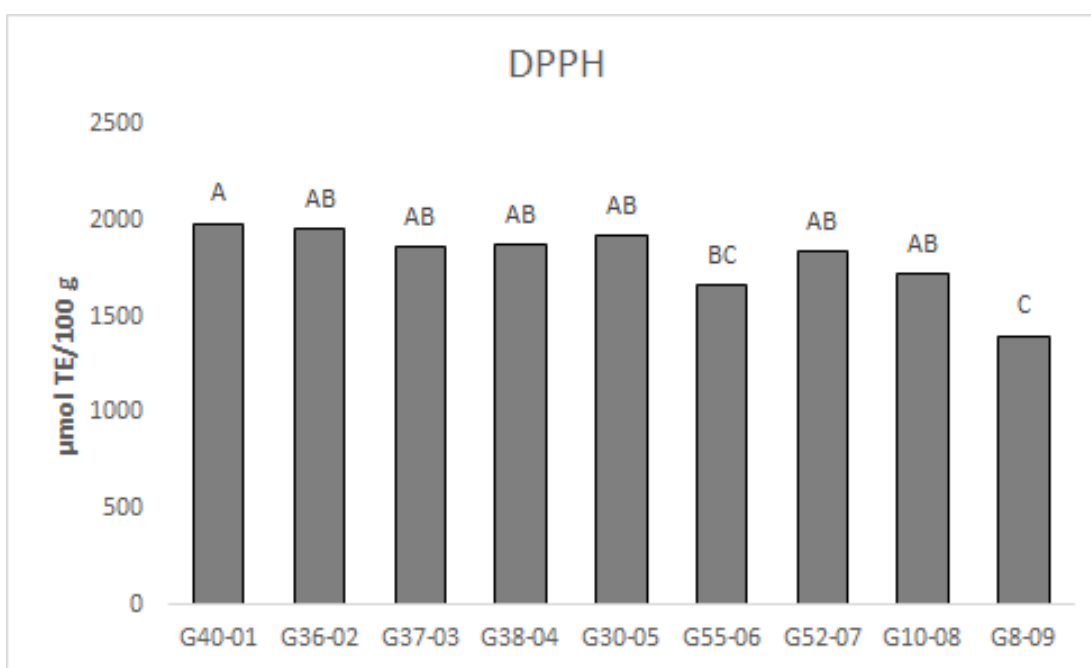


Figura 3. Capacidad antioxidante medida por DPPH en genotipos de frijol. Los valores son el promedio de tres repeticiones. Medias ($n = 3$). Las barras representan la desviación estándar de la media. Letras diferentes en cada barra significan que los genotipos fueron estadísticamente diferentes (Tukey, $p \leq 0.05$).

ABTS

Para la capacidad antioxidante de ABTS se obtuvieron valores en un rango de 9155.7 a 10346.8 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$ (Figura 4). La mayor concentración se vio en los genotipos G52-07 y G8-08 con 10346.8 Y 10313.5 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$, mientras que las menores capacidades antioxidantes se presentaron en el genotipo G40-01 con 9155.7 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$. Estudios previamente realizados por Salas-Pérez, *et al.* (2016), en donde se analizaron germinados de trigo, se tuvieron como resultados de 114 M Trolox/100 g de peso fresco, el cual representa un valor sumamente inferior al de nuestros resultados. Si consideramos una media de 9500 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ para nuestros resultados, podemos concluir que el germinado de frijol es sumamente superior en lo que respecta a capacidad antioxidante.

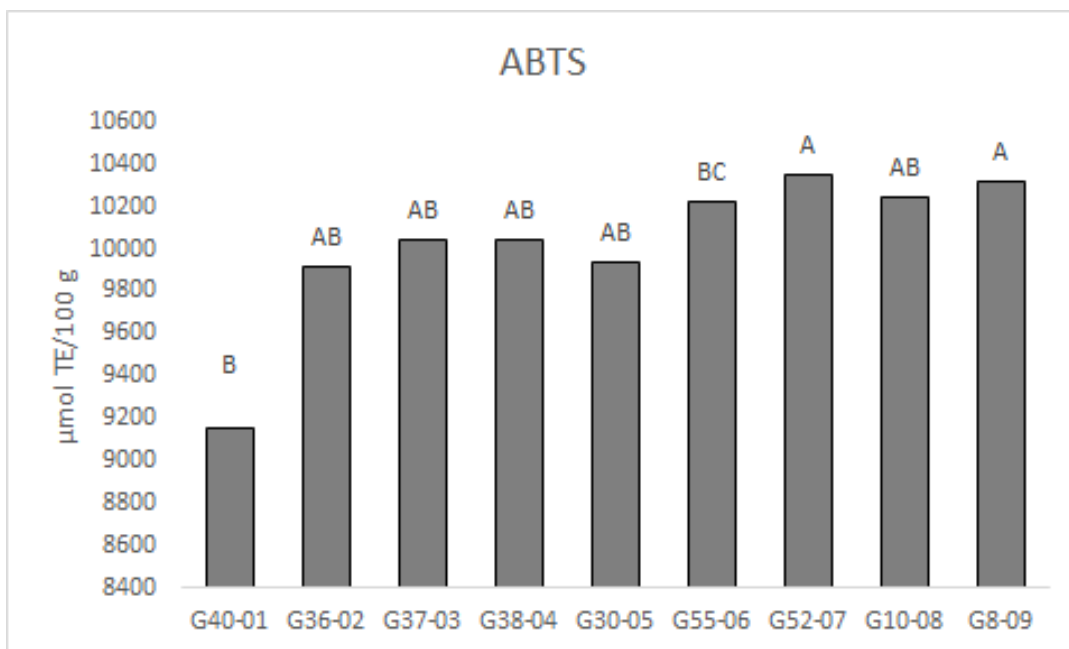


Figura 4. Capacidad antioxidante medida por ABTS en genotipos de frijol. Los valores son el promedio de tres repeticiones. Medias ($n = 3$). Las barras representan la desviación estándar de la media. Letras diferentes en cada barra significan que los genotipos fueron estadísticamente diferentes (Tukey, $p \leq 0.05$).

FRAP

Para la capacidad antioxidante determinada por FRAP, se obtuvieron valores de 4891.1 a 2,932.2 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$. La mayor capacidad antioxidante se pudo observar en el genotipo G52-07 con $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$, mientras que en el genotipo G37-03 ($\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$) se observó la menor capacidad antioxidante. Germinados de lenteja sometidos a tratamientos de ácido cítrico por Salas-Pérez, *et al.* (2018), reportaron valores 100 a 140 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$, por ende, podemos mencionar que en los germinados de frijol hay una mayor capacidad antioxidante para el método FRAP.

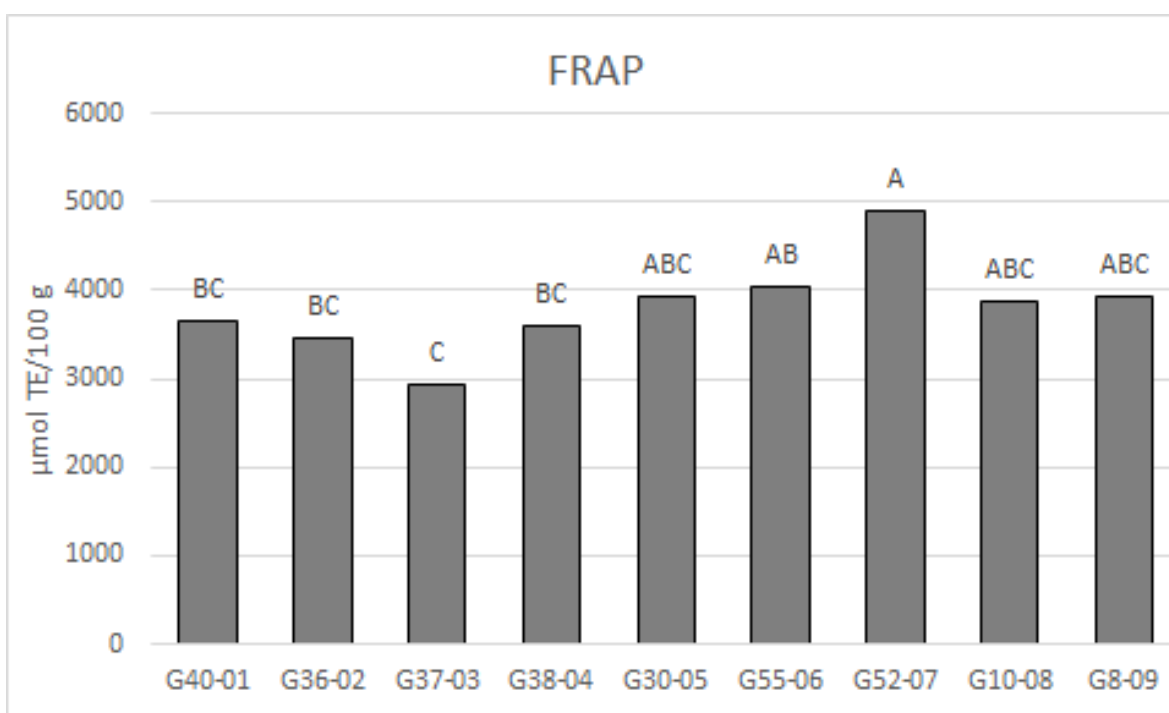


Figura 5. Capacidad antioxidante medida por FRAP en genotipos de frijol. Los valores son el promedio de tres repeticiones. Medias ($n = 3$). Las barras representan la desviación estándar de la media. Letras diferentes en cada barra significan que los genotipos fueron estadísticamente diferentes (Tukey, $p \leq 0.05$).

CONCLUSIONES

Los resultados indican una amplia variabilidad en la concentración de fenoles y flavonoides totales, con rangos que van de 670.69 a 921.54 mg GAE/100 g, y 259.9 a 1645.9 mg GAE/100 g, respectivamente.

La mayor capacidad antioxidante en DPPH se presentó en el genotipo G40-01, mientras que en ABTS y FRAP fue para el genotipo G52-07, esto posiblemente debido a la mayor concentración de compuestos hidrosolubles y liposolubles presentes en los germinados.

Los germinados de frijol presentan una mayor acumulación de compuestos nutracéuticos en comparación con otros estudios, por esto representan una fuente importante de antioxidantes.

REFERENCIAS

- Alejandra, P. V. I., Angelica, F. P. A., García, J., y Neli, S. 2018. Contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en germinados de alfalfa (*Medicago sativa*) y amaranto (*Amaranthus cruentus*). Determinación del grado de estrés en docentes universitarios con actividad, 8223.
- Awulachew, M. T. 2022. A Review to nutritional and health aspect of sprouted food. *Int J Food Sci Nutr Diet*, 10(7), 564-568.
- Daniel Sinkel, John Khouryieh and Martin Stone. Good agriculture practices for sprouts. Western Kentucky University. USDA.
- Escorza, M. A. Q., y Salinas, J. V. C. 2009. La capacidad antioxidante total. Bases y aplicaciones. *Revista de educación bioquímica*, 28(3), 89-101.
- Estrada-Reyes, R., Ubaldo-Suárez, D., y Araujo-Escalona, A. G. 2012. Los flavonoides y el sistema nervioso central. *Salud mental*, 35(5), 375-384.
- Felices, E. J. A., y Viacava, M. R. 2018. Actividad antioxidante del germinado de la semilla de cuatro variedades de *Amaranthus Caudatus* L." Kiwicha". *Investigación*, 26(2), 99-104.
- Fernández Valenciano, A. F., y Sánchez Chávez, E. 2017. Estudio de las propiedades fisicoquímicas y calidad nutricional en distintas variedades de frijol consumidas en México. *Nova Scientia*, 9(18), 133-148.
- Flores, M. L. 2015. El cultivo del frijol en México.
- Haytowitz, D. B., Eldridge, A. L., Bhagwat, S., Gebhardt, S. E., Holden, J. M., Beecher, G. R., y Dwyer, J. 2002. Flavonoid content of vegetables. *Journal of food composition and analysis*, 15, 339-348.
- Herrera, M. D. 2018. La sequía y su efecto sobre el rendimiento y la calidad nutrimental y nutracéutica de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.).
- Hinojosa-Dávalos, J., Cardona-López, M. A., Gutiérrez-Lomelí, M., Barrera-Rodríguez, A., y Robles-García, M. Á. 2019. Identificación del perfil fitoquímico y efecto del estrés lumínico sobre la capacidad antioxidante del germinado de brócoli en un dispositivo germinador rotatorio tipo tambor. *Biocencia*, 21(3), 67-75.

- Jiménez, C. I. E., Martínez, E. Y. C., y Fonseca, J. G. 2009. Flavonoides y sus acciones antioxidantes. *Rev Fac Med UNAM*, 52(2), 73-5.
- Kedare, S. B., & Singh, R. P. 2011. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of food science and technology*, 48(4), 412-422.
- Londoño Londoño, J. A. 2012. Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad. In *Desarrollo y transversalidad serie Lasallista Investigación y Ciencia*. Corporación Universitaria Lasallista.
- Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, J. M., y Tuñón, M. J. 2002. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición hospitalaria*, 17(6), 271-278.
- Mercado-Mercado, G., Rosa Carrillo, L. D. L., Wall-Medrano, A., López Díaz, J. A., y Álvarez-Parrilla, E. 2013. Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas consumidas en México. *Nutrición hospitalaria*, 28(1), 36-46.
- Miyahira, R. F., Lopes, J. de O., and Antunes, A. E. C. 2021. The use of sprouts to improve the nutritional value of food products: A brief review. *Plant foods for human nutrition*, 76(2), 143–152. doi:10.1007/s11130-021-00888-6
- Peñarrieta, J. M., Tejeda, L., Mollinedo, P., Vila, J. L., y Bravo, J. A. 2014. Phenolic compounds in food. *Revista boliviana de química*, 31(2), 68-81.
- Persson, T., Popescu, B. O., & Cedazo-Minguez, A. 2014. Oxidative stress in Alzheimer's disease: why did antioxidant therapy fail? *Oxidative medicine and cellular longevity*.
- Ramírez H. J. H., García F. C. F., Vizcaino R. J. A., Mariel C. J., Gutiérrez C. F. J., Mariel M. H., Villagrán R. S. 2012. ¿Qué son y para qué sirven los antioxidantes? *Revista de divulgación científica y tecnológica de la universidad veracruzana*. Vol. XXV. No.2. ¿Qué son y para qué sirven los antioxidantes? - Volumen XXV - Número 2 - Revista: La ciencia y el hombre - Universidad Veracruzana (uv.mx)
- Rioja Antezana, A. P., Vizaluque, B. E., Aliaga-Rossel, E., Tejeda, L., Book, O., Mollinedo, P., y Peñarrieta, J. M. 2018. Determinación de la capacidad antioxidante total, fenoles totales, y la actividad enzimática en una bebida no láctea en base a granos de *chenopodium quinoa*. *Revista Boliviana de Química*, 35(5), 168-176.
- Rochín-Medina, J. J., Mora-Rochín, S., Navarro-Cortez, R. O., Tovar-Jiménez, X., Quiñones-Reyes, G., Ayala-Luján, J. L., y Aguayo-Rojas, J. 2021. Contenido de

- compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de variedades de frijol sembradas en el estado de Zacatecas. *Acta universitaria*, 31.
- Salas-Pérez, L., Gaucín Delgado, J. M., Preciado-Rangel, P., Gonzales Fuentes, J. A., Ayala Garay, A. V., y Segura Castruita, M. Á. 2018. La aplicación de ácido cítrico incrementa la calidad y capacidad antioxidante de germinados de lenteja. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 9(SPE20), 4301-4309.
- Salas-Pérez, L., Gaucín-Delgado, J. M., Preciado-Rangel, P., Fortis-Hernández, M., Valenzuela-García, J. R., y Ayala-Garay, A. V. 2016. Efecto del ácido benzoico en la capacidad antioxidante de germinados de trigo. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, (17), 3397-3404.
- Sikin, A. M., Zoellner, C., & Rizvi, S. S. 2013. Current intervention strategies for the microbial safety of sprouts. *Journal of food protection*, 76(12), 2099-2123.
- Suárez-Martínez, S. E., Ferriz-Martínez, R. A., Campos-Vega, R., Elton-Puente, J. E., de la Torre Carbot, K., & García-Gasca, T. 2016. Bean seeds: leading nutraceutical source for human health. *CyTA-Journal of Food*, 14(1), 131-137.
- Ulloa, J. A., Rosas Ulloa, P., Ramírez Ramírez, J. C., y Ulloa Rangel, B. E. 2011. El frijol (*Phaseolus vulgaris*): su importancia nutricional y como fuente de fitoquímicos. CONACYT.
- Vargas, R. A., y Petricevich, V. L. 2018. Importancia biológica de los compuestos fenólicos. *Inventio, la génesis de la cultura universitaria en Morelos*, (34), 33-38.