

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA



Actividad Antioxidante de Germinados de Frijol (*Phaseolus vulgaris*) Derivados de Genotipos con Diferente Pigmentación de Grano

Por:

MARÍA DOLORES LERMA SUBIAS

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA

Saltillo, Coahuila, México

Junio 2023

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA

Actividad Antioxidante de Germinados de Frijol (*Phaseolus vulgaris*) Derivados de Genotipos con Diferente Pigmentación de Grano

Por:

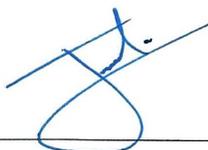
MARÍA DOLORES LERMA SUBIAS

TESIS

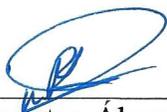
Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA

Aprobada por el Comité de Asesoría:



Dr. Josué Israel García López
Asesor Principal



Dr. Perpetuo Álvarez Vázquez
Coasesor



Dra. Adriana Antonio Bautista
Coasesor



Dr. Jerónimo Landeros Flores
Coordinador Interino de la División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México

Junio 2023



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 a autor original y/o fuente, así mismo tengo conocimiento de que cualquier uso distinto de estos materiales como en 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

Dolores Lerma

María Dolores Lerma Subias

AGRADECIMIENTOS

A **Dios**, por dejarme culminar esta etapa de mi vida y guiarme hasta donde estoy, por ayudarme a permanecer fuerte cada vez que algo va mal y dejarme disfrutar cada momento.

A mi **Alma Terra Mater** Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por darme la oportunidad de formar parte de su alumnado, otorgarme los conocimientos necesarios para mi formación, por ser mi segundo hogar y poner a buenos amigos en mi vida.

A **mis profesores**, por cada conocimiento transmitido, cada llamada de atención y consejos para ayudarme a seguir creciendo como persona y profesionalmente.

A mi asesor **Dr. Josué I. García**, por la confianza que me brindo al momento de iniciar a trabajar en el proyecto de tesis, por compartir sus conocimientos y por toda la paciencia a lo largo del proyecto.

Al **departamento de Botánica**, por el apoyo brindado de parte de cada profesor a lo largo de mi formación.

DEDICATORIA

A mis padres, Roberto Lerma Vallejo y Virginia Subias Villafuerte muchas gracias por su apoyo incondicional, la confianza, todos sus consejos, esfuerzos y sacrificios por darme la oportunidad de llegar hasta este punto, gracias por estar siempre motivándome a cumplir mis sueños y metas, por cada regaño, gracias a ustedes he podido terminar mi formación profesional y es un logro que va dedicado a ustedes con todo el amor que les tengo.

A mi hermana, Erika Lerma Subias gracias por guiarme y apoyarme en cada etapa de mi vida, por estar a mi lado en cada momento bueno o malo y ayudarme siempre que te necesito.

A mis hermanos, Roberto y Adán por cada momento feliz a su lado, por ayudarme en todo lo posible y espero verlos crecer cada vez más y logrando cada meta que tengan.

A mis abuelos, tíos y primos, por cada momento feliz al convivir, todas sus palabras de aliento y apoyo constante para seguir cumpliendo mis metas.

A Griselda Analia Hernández Ducoing, mi mejor amiga, gracias por todo el tiempo estar a mi lado, por la confianza y ayuda que me has brindado a lo largo de estos años, por todos los momentos felices y tristes compartidos y por hacer esta etapa más linda, espero que sigamos siendo igual de unidas y seguir contando contigo en cada logro del futuro, te quiero.

A Francisco Garay Olmos, porque a pesar del poco tiempo has sido parte importante, pues siempre estas apoyándome y dándome ánimos, gracias por todo lo vivido hasta el momento, espero poder seguir compartiendo muchos momentos lindos contigo y sobre todo espero que tú también cumplas todos tus sueños y metas, te quiero.

A mis amigos, Hugo Octavio Méndez Roblero, Edgar Miguel Ramírez Medina y Juan José Padilla, por cada momento feliz, por todo su apoyo a diario y por hacerme parte de sus logros, gracias por ser parte de esta etapa tan bonita, éxito amigos.

¡Con mucho cariño Dolores Lerma!

ÍNDICE GENERAL DEL CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIA.....	ii
ÍNDICE GENERAL DEL CONTENIDO	iii
ÍNDICE DE CUADROS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
RESUMEN	vii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Hipótesis.....	2
1.2 Objetivo.....	2
2. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Importancia de los germinados en la alimentación	3
2.2 Importancia de los germinados en la industria.....	4
2.3 Propiedades nutricionales y antioxidantes de germinado de frijol.....	6
2.4 Técnicas de determinación de la capacidad antioxidante.....	7
2.5 Método DPPH	8
2.6 Método ABTS (azinobis 3-etilbenzotiazolina-6-acido sulfónico)	8
2.7 Método FRAP	9
2.8 Rutas metabólicas de compuestos fenólicos	9
3. MATERIALES Y MÉTODOS	11
3.1 Material genético.....	11
3.2 Siembra y condiciones para la germinación de semillas.....	12
3.3 Preparación de las muestras	12
3.4 Extracción de compuestos fenólicos	12
3.5 Cuantificación de fenoles totales	12
3.6 Ensayo DPPH.....	13
3.7 Ensayo ABTS	13
3.8 Ensayo FRAP	13
3.9 Análisis estadístico	14
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	15
4.1 Concentración de fenoles totales.....	15

4.2 Capacidad antioxidante por DPPH	16
4.3 Capacidad antioxidante por ABTS.....	17
4.4 Capacidad antioxidante por FRAP.....	17
5. CONCLUSIONES.....	19
6. LITERATURA CITADA	20

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Cuadrados medios del análisis de varianza para el contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante antioxidantes en genotipos de frijol.	15
--	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Estructura química del radical libre metaestable DPPH.	8
Figura 2: Estructura química del ABTS.....	9
Figura 3: Proceso de oxidación.....	9
Figura 4: Formación de ácido shikímicoa partir de fosfoenolpiruvato y eritrosa 4-fosfato.	10
Figura 5. Genotipos de frijol utilizados para el estudio.	11
Figura 6. Concentración de fenoles totales en los germinados de los diferentes genotipos (Gen) de frijol.	16
Figura 7. Capacidad antioxidante por DPPH en germinados obtenidos de diferentes genotipos de frijol.....	16

RESUMEN

Los cereales de grano entero germinados traen considerables beneficios para la salud, debido a su aporte nutricional y nutracéutico a la dieta humana. En este estudio, el objetivo fue determinar la concentración de fenoles totales y la capacidad antioxidante (DPPH, ABTS y FRAP) en germinados obtenidos de diferentes genotipos de frijol, los cuales se clasificaron como genotipo 1 (grano blanco), genotipo 2 (grano negro), genotipo 3 (grano pinto) y genotipo 4 (flor de mayo). Los resultados permitieron identificar un efecto significativo ($p \leq 0,05$) entre los diferentes germinados de los genotipos de frijol para el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante medida por ABTS y FRAP, para DPPH fueron estadísticamente iguales. La mayor concentración de fenoles totales se presentó en el genotipo Gen 4 y Gen 3, con concentraciones de 882.28 y 758.75 mg GAE/100 g. Para el ensayo de ABTS, la mayor capacidad antioxidante se presentó en los genotipos Gen 1 y Gen 4 con 4371.3 y 3682.8 $\mu\text{mol TE}/100 \text{ g}$, mientras que para FRAP se presentó en los germinados de genotipo Gen 1 con 4954.42 $\mu\text{mol TE}/100 \text{ g}$. Los resultados indican una amplia variabilidad en el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante entre los germinados obtenidos de los diferentes genotipos de frijol.

Palabra clave: Germinados, capacidad antioxidante, polifenoles, frijol.

1. INTRODUCCIÓN

El frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) es la leguminosa más importante para consumo humano en el mundo, ya que es una fuente importante de proteína, calorías, vitaminas del complejo B y minerales (Fernández Valenciano et al., 2017). El frijol es un alimento con una alta concentración de nutrientes, el porcentaje de proteína oscila entre 21.2 % y 27.9 %, carbohidratos 52 g 100 g⁻¹, hierro 6.8 mg 100 g⁻¹, manganeso 4.1 mg-100 g⁻¹ y fósforo 1.5 mg 100 g⁻¹ (Araméndiz-Tatis et al., 2016). Sin embargo, posiblemente los germinados de frijol tienen propiedades nutricionales superiores las del grano sin germinar.

En este contexto, podemos citar la información Dziki et al. (2015), quienes mencionan que los germinados de lenteja aportan carbohidratos, vitaminas y nutrimentos, además de un alto contenido de compuestos fitoquímicos como los polifenoles con alta capacidad antioxidante. Entre los grupos de polifenoles se encuentran diferentes compuestos, como son: ácidos fenólicos, flavonoides, antocianinas y taninos condensados con alto poder antioxidante (Paulsmeyer et al., 2017). Los germinados ricos en compuestos nutraceuticos pueden ayudar a prevenir enfermedades cardiovasculares como la obesidad, diabetes, colesterol y ciertos tipos de cáncer (próstata y colón), estabilizando radicales libres al ceder átomos de hidrógeno, lo que permite reducir el estrés oxidativo y actuar como un efecto protector sobre los componentes celulares (García-Reyes et al., 2022).

No obstante, el contenido de polifenoles en el grano y/o los germinados puede estar determinado por el color del grano, además de la constitución genética del genotipo y el ambiente de crecimiento (Uñate-Fraga et al., 2022). Por esta información, consideramos de relevancia generar información del contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en germinados de frijol con diferentes pigmentaciones. El objetivo de este estudio fue determinar la concentración de fenoles totales y la capacidad antioxidante (DPPH, ABTS y FRAP) en germinados obtenidos de diferentes genotipos de frijol, clasificados como genotipo 1 (grano blanco), genotipo 2 (grano negro), genotipo 3 (grano pinto) y genotipo 4 (flor de mayo).

1.1 Hipótesis

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

H₀: La concentración de fenoles y la capacidad antioxidante (DPPH, ABTS y FRAP) de los germinados de frijol no presentará diferencias entre genotipos.

1.2 Objetivo

Determinar la concentración de fenoles y la capacidad antioxidante (DPPH, ABTS y FRAP) de germinados de frijol obtenidos de genotipos con grano de diferente pigmentación.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Importancia de los germinados en la alimentación

Los germinados son de los pocos alimentos que se consumen cuando se encuentran en etapa de desarrollo, Arrieta Miranda, 2021, menciona que en el momento de desarrollo del germinado es cuando se saca la mayor cantidad de beneficios de la planta. Estos presentan características propias de una hortaliza como plántulas suculentas de ciclo vegetativo corto que va de tres a diez días dependiendo la especie y son cultivados bajo condiciones de manejo intensivo. Este es un alimento rico en enzimas, aminoácidos y proteínas, clorofila, vitaminas, minerales y oligoelementos. En algunas especies las semillas aumentan en gran medida su peso, volumen y valor nutricional durante la germinación (Barrón-Yáñez *et al.*, 2009).

Son productos agrícolas de gran importancia, debido a que son un alimento con aporte nutritivo que tiene el primer lugar dentro de la alimentación en los países desarrollados ya que proporciona todos los nutrientes necesarios para una dieta equilibrada. Se aconseja el consumo de germinados porque son productos naturales, que aportan una cantidad importante de energía, son sencillos de asimilar porque los almidones se descomponen en azúcares simples, y ayudan al organismo a desintoxicarse y a la regeneración de las células (Chavarrias, 2013).

Los germinados tienen un sabor agradable además de que son alimentos frescos. En la segunda etapa del desarrollo de las semillas, cuando las raíces se están estableciendo, es el momento más adecuado para cosecharse. Dependiendo del tipo, estos ofrecen fibra, vitaminas y minerales. Se pueden germinar todo tipo de semillas de leguminosas o granos de cereales, los brotes tiernos se consideran "alimentos funcionales e innovadores" porque son plántulas extraordinariamente nutritivas que tienen importantes beneficios para la salud de nuestro organismo. Los germinados también son un alimento que se produce fácilmente. Los germinados elaborados a partir de granos de cereales, legumbres y productos de legumbres como la alfalfa y la soja verde son los más populares debido a su textura y sabor (Chavarrias,

2013). Los germinados de frijol son ricos en fibra, lo cual es bueno para el tracto intestinal. Te mantienen satisfecho sin la preocupación por engordar ya que no contienen grasa (Rodríguez, 2021).

En el proceso de germinación, las enzimas se activan rápidamente. En solo unos minutos después de remojar las semillas en agua, las enzimas transforman los brotes en un alimento fácil de digerir para las personas. Al igual que con otros alimentos crudos, todos los nutrientes de los germinados se encuentran en perfecta armonía y equilibrio para el cuerpo humano. Su distribución molecular de nutrientes se dispersa cuando son cocinados porque se pierde este equilibrio (Martín, 2005).

2.2 Importancia de los germinados en la industria

En respuesta a las demandas de los consumidores de suministros constantes de productos frescos, la producción de germinados se ha convertido en una industria en crecimiento. Más de 400 productores producen 300 000 toneladas de germinados al año para el mercado estadounidense, cuyo valor se estima en \$25 millones, el germinado más frecuente es la alfalfa. Los germinados frescos son un tipo popular de brotes verdes que están disponibles y se han relacionado con la mayoría de los brotes relacionados con su consumo. Las semillas de alfalfa contenían habitualmente altos niveles de flora microbiana, incluidos coliformes y coliformes fecales, según los análisis microbiológicos (Feng, 1997).

Para la producción y comercialización de germinados es importante la aplicación de las Buenas Prácticas Agrícolas y buenas prácticas de manufactura, el decreto 3075 de 1997 expedido por el Ministerio de Salud, implementó esta norma en el sector de alimentos (Arrieta-Miranda, 2021). Sin embargo, hay pocos incentivos para adherirse a las Buenas Prácticas Agrícolas durante el crecimiento y la cosecha porque la decisión de usar esas semillas para la agricultura o la germinación generalmente se toma después de la cosecha. Los patógenos probablemente son capaces de persistir a largo plazo una vez que están incrustados en las semillas. La salmonela puede soportar ambientes secos durante meses, según estudios, como las que se utilizan para almacenar los brotes de alfalfa en su

procesamiento y transporte. Múltiples lotes de semillas de varios orígenes se mezclan con frecuencia durante las prácticas de venta (Thompson y Powell 2000).

Las semillas germinadas contienen altas concentraciones de inhibidores de tripsina, que pueden servir como un mecanismo de defensa mediante el cual las semillas inhiben las enzimas similares a la tripsina en las bacterias. Sin embargo, durante la germinación, los niveles de tripsina inhibidora caen, lo que permite que florezca la flora microbiana. Similar a esto, el aumento de 10 veces en los nutrientes de las semillas secas a las semillas de germinación proporciona sustratos para el crecimiento microbiano durante la brotación. Los altos niveles de humedad que están fácilmente disponibles y el calor producido por el proceso de germinación también crean un ambiente favorable para el crecimiento bacteriano (Thompson y Powell 2000).

El hecho de que el proceso de germinación carezca de pasos de eliminación incorporados que detengan por completo el crecimiento bacteriano ayuda a crear estas condiciones ideales para el crecimiento bacteriano. A la luz de esto, la flora bacteriana de los germinados fue con frecuencia de dos a diez longitudes más altas que la de las semillas. Se ha demostrado que la *E. coli* inoculada en semillas de alfalfa alcanza 10.6 a 10.7 ufc/g dentro de las 48 horas posteriores al comienzo del proceso de germinación. (Prokopowich D y Blank G. 1991). Las especies de *Salmonella* pueden multiplicarse por hasta cuatro o cinco semillas germinadas cuando se siembran en semillas de alfalfa, potencialmente, el proceso de germinación puede convertir a los patógenos en una microbiología de gran importancia para el manejo de germinados (Feng, 1997).

Georgia y Massachusetts establecieron sus respectivas universidades. Su objetivo era encontrar métodos para reducir el número de patógenos en los brotes en más del 99,9 %. El uso de calor para esterilizar semillas antes de la germinación, el análisis de semillas después de la desinfección y dos técnicas de irradiación diferentes fueron todas las opciones que se tuvieron en cuenta para lograr este objetivo. Según se informa, el presidente de ISSGA dijo que la organización creía que la salud de los consumidores era la prioridad más importante, a pesar de la predicción de que la industria perdería hasta \$50 millones en 1999 como

resultado de menores ventas. Para detener los brotes de patógenos y recuperar la confianza del consumidor en el producto, la organización estaba ansiosa por encontrar soluciones. La FDA emitió una declaración el 9 de julio de 1999, advirtiendo a todos que sean conscientes de los riesgos asociados con el consumo de germinados crudos a la luz del creciente número de enfermedades relacionadas con ellos (Thompson y Powell, 2000).

2.3 Propiedades nutricionales y antioxidantes de germinado de frijol

El frijol mungo *Vigna radiata*, el frijol de la especie *Phaseolus vulgaris* y el frijol *adsuki* se encuentran entre los alimentos más populares que se consumen en forma de germinados; los sabores de estos germinados se distinguen por ser dulces. Los germinados de este grupo en particular son abundantes en compuestos fitoquímicos (compuestos fenólicos, isoflavonas, fitoesteroles, etc.), así como en proteínas, fibra, vitaminas y minerales (Martín, 2005). Una de las legumbres más populares que se consumen en todo el mundo es de la especie *Phaseolus vulgaris*, se considera un alimento funcional ya que su consumo es ventajoso para la salud puesto que se le atribuye un poder antioxidante y anticancerígeno. Sin embargo, contiene elementos anti nutricionales como taninos, acidofítico y los inhibidores de tripsina, los cuales afectan su digestibilidad y son perjudiciales para la salud de quienes los consumen (Mendoza, 2018).

En términos de proteínas, vitaminas, minerales y compuestos fitoquímicos, los germinados de *Phaseolus vulgaris* son contenidos en cantidades similares a los alimentos no germinados. Sin embargo, se ha demostrado que en su presentación como germinados contienen menos compuestos anti nutricionales, por lo que se convierten en una opción de alimentación más favorable (Castro-Ortiz y Chía-Rodríguez, 2021). La germinación aumenta la digestibilidad de proteínas y carbohidratos, la cantidad de vitaminas B, fibra dietética y minerales, la biodisponibilidad de aminoácidos y disminuye los factores anti nutricionales (saponinas, alcaloides, polifenoles, alfa galactósidos, fitatos e inhibidores de tripsina). Además, el remojo de semillas antes de la germinación reduce la cantidad de materiales no nutritivos (Muñoz-Llandes *et al.*, 2021).

Los germinados, particularmente los de las legumbres, le aportan al cuerpo proteínas completas que se convierten en los ocho aminoácidos esenciales que el cuerpo no puede producir por sí solo. Si hay una sola deficiencia en una de estas sustancias puede causar el desarrollo de alergias, lentitud, mala digestión, deficiencias del sistema inmunológico o envejecimiento prematuro de las células (Elorza, 2016). Dentro de las sustancias que se aumentan considerablemente por efecto de la germinación esta la vitamina C. Los germinados de trigo, lentejas, soja, garbanzos y judías son gran fuente de esta vitamina, incrementándose en soja germinada su contenido hasta un 100% y en trigo hasta un 600% en sólo 5 días (Elorza, 2016).

Un gran protector del corazón y tonificante que de igual manera podemos encontrar en los germinados es la vitamina E que funciona como un antioxidante celular. El trigo por ejemplo puede tener un aumento de contenido de hasta tres veces (Elorza, 2016). Se puede decir que la clorofila sirve como el equivalente vegetal de la hemoglobina. Dado que la única diferencia entre las dos moléculas es un solo átomo (magnesio en las hojas y hierro en la hemoglobina), es estructuralmente similar a la hemoglobina que se encuentra en la sangre. Los germinados al igual que las hojas, también acumulan clorofila (Martín, 2005).

La clorofila es absorbida directamente en la sangre a través del sistema linfático, al entrar en el torrente sanguíneo activa el metabolismo celular, mejora las defensas, la resistencia, la capacidad regenerativa de las células y la respiración, entre otras propiedades, mejorando los procesos de curación natural del cuerpo, purifica la sangre, detiene las infecciones y equilibra la relación ácido-base en el cuerpo después del consumo (Elorza, 2016). Los germinados también contienen oligoelementos como el yodo, zinc, selenio, silicio, cromo y cobalto, además de que son bajos en calorías. Contienen enzimas las cuales al ser consumidas en su estado crudo facilitan la digestión de la fibra, las proteínas y las grasas (Elorza, 2016).

2.4 Técnicas de determinación de la capacidad antioxidante

Los métodos para determinar la capacidad antioxidante se basan en comprobar como un agente oxidante induce daño oxidativo en un sustrato oxidable, estos daños son reducidos

debido a la existencia de agentes antioxidantes. Para esto se hace uso de métodos como el 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), el 2,2'-azinobis-(ácido-3 etilbenzotiazolino-6-sulfonico) diamonio (ABTS+) y así mismo la habilidad del plasma para reducir las sales férricas (FRAP, por sus siglas en inglés) donde el Fe^{2+} y el H_2O_2 en la reacción redox produce el radical OH (Quintanar-Escorza y Calderón-Salinas, 2009).

2.5 Método DPPH

DPPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo), consiste en un método de captación de radicales libres muy usado para determinar la actividad antioxidante de algún compuesto o extracto biológico. Su fundamento se basa en la aceptación de un electrón o átomo de hidrógeno por la molécula 1,1-difenil-2-picrilhidrazina, que en solución en metanol es de color violeta intenso. (Ruiz-Benítez, 2020).

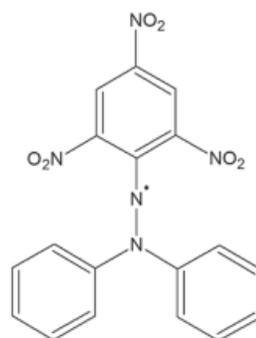


Figura 1: Estructura química del radical libre metaestable DPPH.

Fuente: Londoño-Londoño, 2012.

2.6 Método ABTS (azinobis 3-etilbenzotiazolina-6-acido sulfónico)

Este método se fundamenta en la capacidad de un antioxidante para estabilizar el radical de ABTS, el cual se forma antes por la oxidación del ABTS por metamioglobina y peróxido de hidrógeno. Sus resultados son expresados como equivalentes de Trolox o TEAC (Londoño-Londoño, 2012).

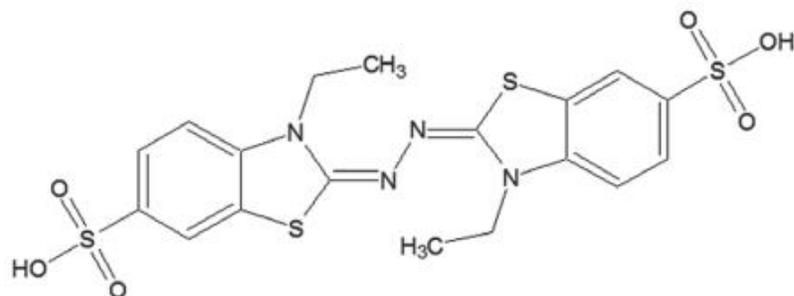


Figura 2: Estructura química del ABTS.

Fuente: Londoño-Londoño, 2012.

2.7 Método FRAP

Este método es fundamentado en la reducción del hierro férrico que está presente en el reactivo FRAP llegando a la forma ferrosa por presencia de antioxidantes. Reactivo FRAP: buffer ácido acético-acetato de sodio, TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina) y FeCl₃ (Rioja-Antezana *et al.*, 2018).

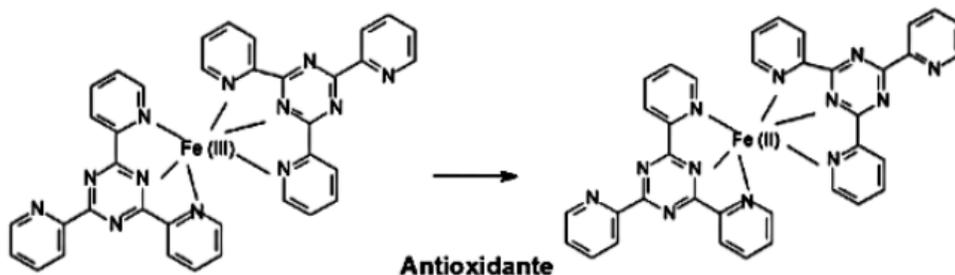


Figura 3: Proceso de oxidación.

Fuente: López-Cruz, 2022.

2.8 Rutas metabólicas de compuestos fenólicos

Las plantas producen muchos productos secundarios diferentes con grupos fenólicos. Todas estas sustancias, conocidas como compuestos fenólicos, polifenoles o fenilpropanoides, son

derivados del fenol, un anillo aromático con un grupo hidroxilo. Químicamente hablando, los compuestos fenólicos son un grupo muy diverso que incluye todo, desde moléculas sencillas como los ácidos fenólicos hasta polímeros complejos como los taninos condensados y la lignina. Los compuestos fenólicos también contienen pigmentos flavonoides. Según Avalos y Pérez (2009), muchos de estos productos están involucrados en interacciones entre plantas herbívoras. Alrededor de 3000 compuestos fenólicos conforman la clase de compuestos conocidos como flavonoides o bioflavonoides.

El fosfoenolpiruvato (PEP) y el D-eritrosa-4-fosfato se combinan para crear el 3-desoxi-D-arabino-heptusolónico-7-fosfato (DAHP), que es el primer paso en el método más importante para producir compuestos fenólicos. El mecanismo de esta reacción es comparable al de una condensación de Claisen, aunque la mayoría de las veces es catalizada enzimáticamente. Debido a que NAD está presente, una oxidación que elimina el ácido fosfórico de DAHP produce un enol. Luego se crea un intermedio, que sufre una reorganización para convertirse en ácido 3-deshidroquínico. Si está presente NADH y la enzima que oxidó DAHP, reducirá el ácido 3-deshidroquínico a ácido quínico. La deshidratación del ácido 3-deshidroquínico produce ácido 3-deshidroshikímico, que luego pasa por un proceso de reducción en presencia de NADPH para producir ácido shikímico (Dewick, 2002).

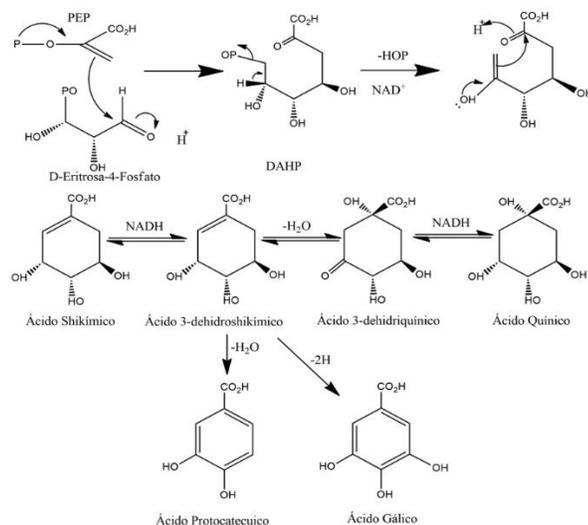


Figura 4: Formación de ácido shikímicoa partir de fosfoenolpiruvato y eritrosa 4-fosfato.

Fuente: Dewick, 2002.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Material genético

Los granos de frijol fueron proporcionados por el Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Granos y Semillas (CCDTS) de la UAAAN, e identificados como genotipo 1 (grano blanco), genotipo 2 (grano negro), genotipo 3 (grano pinto) y genotipo 4 (flor de mayo). Las características físicas del grano de cada genotipo se pueden observar en la Figura 1.



Figura 5. Genotipos de frijol utilizados para el estudio.

3.2 Siembra y condiciones para la germinación de semillas

Los granos de frijol se sembraron en hojas de papel Anchor humedecidas con agua destilada, enseguida se sembraron 25 semillas de cada genotipo de frijol, posteriormente se enrollaron en “forma de taco” y se colocaron aleatoriamente en una bolsa de polietileno transparente dentro de una canastilla, la cual se introdujo dentro de una cámara de germinación Lab-line Instruments a una temperatura de 25° C y 80 % de humedad. El crecimiento de los germinados se detuvo al cuarto día, y las estructuras del germinado (plúmula y radícula) fueron sometidas a secado a 50 °C por 48 h para eliminar el contenido de humedad y proceder a la extracción de compuestos antioxidantes.

3.3 Preparación de las muestras

Después del secado, las estructuras del germinado (plúmula y radícula) se molieron y tamizaron en un mortero hasta obtener partículas con tamaño <0,5 mm (malla estándar 35). Posteriormente, en la harina obtenida se llevó a cabo la extracción de compuestos antioxidantes.

3.4 Extracción de compuestos fenólicos

La extracción de polifenoles se realizó de acuerdo con Rodríguez-Salinas et al. (2020). Para ello, 200 mg de la harina obtenida para cada germinado fue suspendida con 3 mL de metanol al 80 %, se purgó durante 30 s con argón y se agitó durante 2 h a 200 rpm. Enseguida, las muestras se centrifugaron a 5750g (25 °C, 5 min) y el sobrenadante fue recuperado y almacenado a –20 °C hasta su análisis.

3.5 Cuantificación de fenoles totales

Los ensayos de fenólicos totales y de capacidad antioxidante se realizaron en un espectrofotómetro Thermo Spectronic BioMate3 (Rochester, NY, USA), de acuerdo con lo establecido por López-Contreras et al. (2015). Para la determinación del contenido de fenoles, se tomaron 0.2 mL de cada extracto y se agregaron 2.6 mL de agua destilada y 0.2

mL de reactivo de Folin-Ciocalteu. Después de 5 min, se agregaron 2 mL de Na_2CO_3 al 7 % y la solución se agitó durante 30 s, para luego llevar la reacción en oscuridad por 90 min, posteriormente se midió la absorbancia de las muestras a 750 nm.

3.6 Ensayo DPPH

Los ensayos de capacidad antioxidante (DPPH y ABTS) se realizaron de acuerdo con Rodríguez-Salinas et al. (2020). La capacidad antioxidante de DPPH (2,2-difenil-1-picrylhydrazyl) se evaluó utilizando una solución de trabajo 60 μM en metanol al 80 %, con una absorbancia ajustada a 0,7 a 517 nm. El ensayo se llevó a cabo mezclando 50 μL del extracto fenólico con 1,5 mL de la solución de trabajo DPPH, la reacción se dejó durante 30 min en la oscuridad y se determinó la absorbancia.

3.7 Ensayo ABTS

La capacidad antioxidante de ABTS [2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] se llevó a cabo utilizando una solución de trabajo obtenida mezclando 1 mL de ABTS al 7.4 mM y 1 mL de $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ al 2.6 mM, permitiéndoles reaccionar durante 12 h en oscuridad. Después, la absorbancia de la solución de trabajo se ajustó a 0.7 a 734 nm diluyendo con metanol. El ensayo ABTS se realizó mezclando 50 μL del extracto fenólico con 1.5 mL de solución de trabajo ABTS. La reacción se dejó durante 30 min en la oscuridad y se midió la absorbancia.

3.8 Ensayo FRAP

El ensayo de FRAP (poder antioxidante reductor férrico) se determinó utilizando una mezcla 300 mM $\cdot\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (pH 3.6), 10 mM $\cdot\text{TPTZ}$ (2,4,6-tripiryridyl-s-triazine, en HCl 40 mM) y 20 mM de $\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ en proporción 10:1:1 (V:V:V). La reacción se preparó mezclando 50 μL del extracto con 1.5 mL de solución de trabajo FRAP, la mezcla se dejó durante 30 min en la oscuridad a 37 °C y la absorbancia de las muestras se tomó a 593 nm.

3.9 Análisis estadístico

El experimento se sembró bajo un diseño completamente al azar con tres repeticiones para cada genotipo (cada unidad experimental conformada por 25 semillas). 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.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 1, los resultados permitieron identificar un efecto significativo ($p \leq 0,05$) entre los diferentes germinados de los genotipos de frijol para el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante medida por ABTS y FRAP. Esto indica, que en el potencial de átomos de hidrógeno de los extractos antioxidantes de los diferentes germinados fue estadísticamente igual para el radical DPPH. Mientras que los compuestos liposolubles e hidrosolubles de los extractos para la estabilizar a ABTS y FRAP fue diferente. En el siguiente apartado se presentarán a detalle los resultados.

Cuadro 1. Cuadrados medios del análisis de varianza para el contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante antioxidantes en genotipos de frijol.

FV	GL	FEN TL (mg GAE/100g)	DPPH ($\mu\text{mol TE}/100 \text{ g}$)	ABTS ($\mu\text{mol TE}/100 \text{ g}$)	FRAP ($\mu\text{mol TE}/100 \text{ g}$)
Genotipos	3	42013.21**	182380.59	2504701.46**	906465.63**
Error	20	3660.00	68222.66	64861.16	18589.36
C V (%)		7.86	20.73	7.06	2.99

*, ** = 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; DPPH = 2,2-difenil-1-picrylhidrazil; ABTS = 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid).

4.1 Concentración de fenoles totales

La concentración de Fenoles totales mostró valores que variaron de 680.19 a 882.28 mg GAE/100 g (Figura 1). La mayor concentración se presentó en el genotipo Gen 4 y Gen 3, con concentraciones de 882.28 y 758.75 mg GAE/100 g, mientras que la menor concentración se presentó en el genotipo Gen 1 con 680.19 mg GAE/100 g. En cuestión de porcentaje, el Gen 4 superó en 22.91% al Gen 1, esto sugiere una mayor concentración de compuestos antioxidantes.

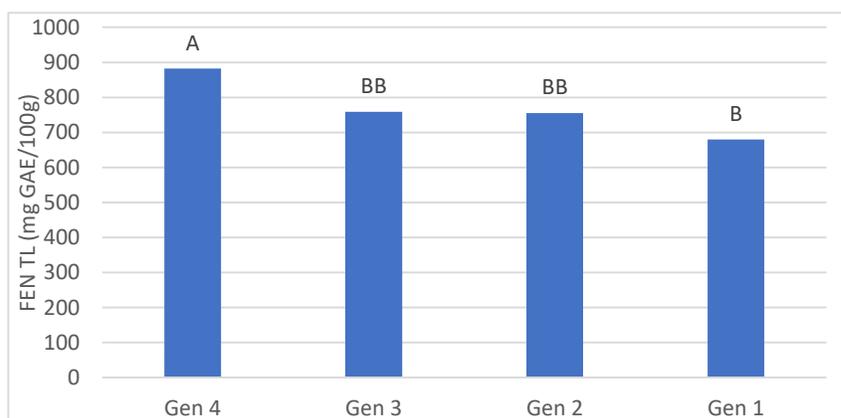


Figura 6. Concentración de fenoles totales en los germinados de los diferentes genotipos (Gen) de frijol.

4.2 Capacidad antioxidante por DPPH

Para la capacidad antioxidante en DPPH, se mostraron valores que varían entre 1126 a 1512.1 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$ (Figura 2), la mayor concentración se presentó en el genotipo Gen 3 con una concentración de 1512.1 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$, mientras que la menor concentración se dio en el genotipo Gen 2 con 1126 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$. Sin embargo, a pesar de que se presentan diferencias numéricas, la capacidad medida por DPPH fue estadísticamente igual entre los germinados de los diferentes genotipos de frijol.

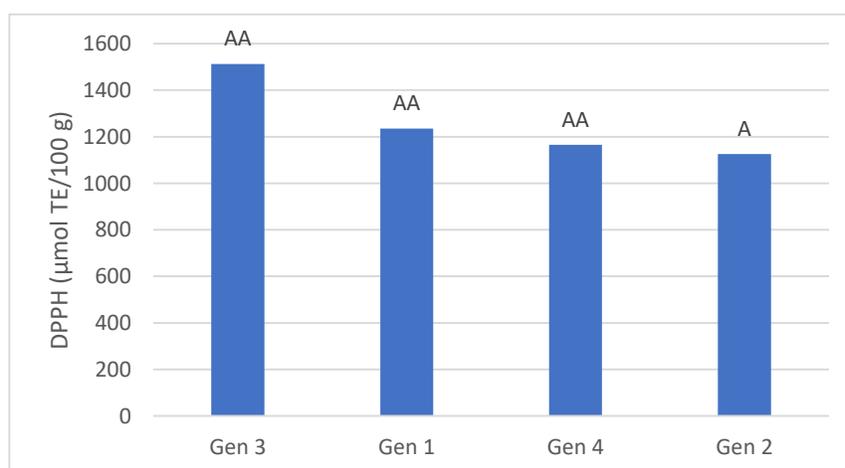


Figura 7. Capacidad antioxidante por DPPH en germinados obtenidos de diferentes genotipos de frijol.

4.3 Capacidad antioxidante por ABTS

Para la capacidad antioxidante medida por ABTS, se obtuvieron valores con rango de 2793.8 a 4371.3 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$ (Figura 3). Extrañamente, la mayor capacidad antioxidante se presentó en los genotipos Gen 1 y Gen 4 con 4371.3 y 3682.8 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$. La menor capacidad antioxidante se presentó en Gen 3 con 2793.8 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$. Esto indica que Gen 1 y Gen 4 posiblemente tengan una mayor capacidad de ceder átomos de hidrógeno y compuestos liposolubles que pueden identificarse en la prueba ABTS (Figura 3), mientras que Gen 3 tiene mayor disponibilidad de compuestos hidrosolubles fácil de detectar en la prueba DPPH (Figura 2)

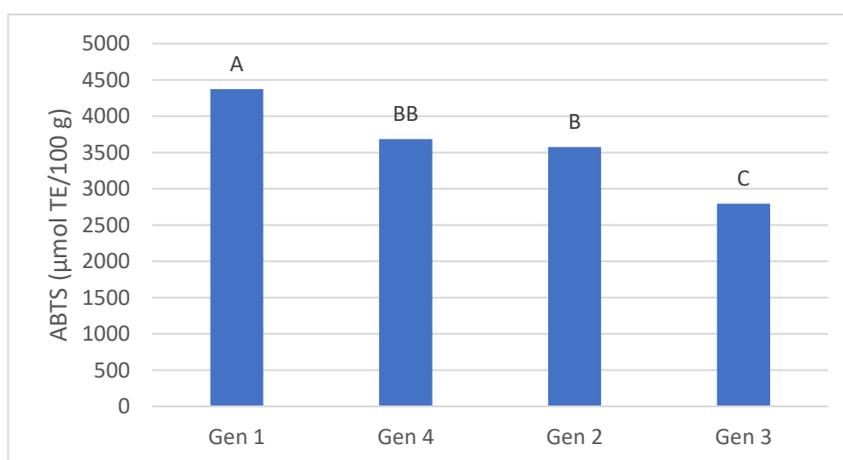


Figura 8. Capacidad antioxidante por ABTS en germinados obtenidos de diferentes genotipos de frijol.

4.4 Capacidad antioxidante por FRAP

Para la capacidad antioxidante por FRAP se mostraron valores de 4205.83 a 4954.42 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$ (Figura 4). La mayor capacidad antioxidante se presentó en los germinados de Gen 1 con 4954.42 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$, mientras que la menor capacidad se encontró en genotipo Gen 3 con 4205.83 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$.

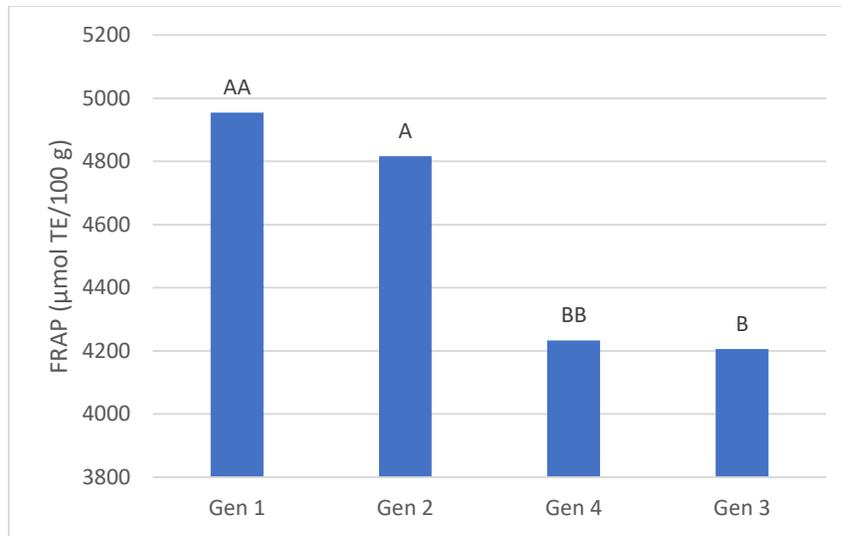


Figura 9. Capacidad antioxidante por FRAP en germinados obtenidos de diferentes genotipos de frijol.

Estudios realizados, han documentado el incremento del contenido de compuestos fenólicos y de la actividad antioxidante en leguminosas y cereales germinados (Khang et al., 2016; Vilcanqui-Pérez et al., 2021). Por ejemplo, en estudios realizados en basul, la semilla sin germinar tenía una concentración de 241,49 mg AGE/100g m.s., mientras que el germinado obtuvo una concentración de 267,15 mg AGE/100g, esto representó un incremento del 9.6 % en la concentración de compuestos bioactivos (Vilcanqui-Pérez *et al.*, 2021). Otro estudio, señalan un en el contenido de polifenoles en semillas germinadas; por ejemplo, el frijol germinado por cinco días, tuvo un aproximado de 5 a 5,5 veces más de fenoles solubles respecto a la semilla no germinada (Gan et al., 2017).

Durante el proceso de germinación, es importante considerar el efecto que tienen las propiedades funcionales, como la solubilidad que impacta en la capacidad emulsificante, formación de la espuma y gelificación (Hernández-Aguilar et al., 2020). El incremento observado, posiblemente se deba a que conforme transcurre el proceso de germinado, se desarrollan nuevas células vegetales con nuevas paredes celulares y concomitantemente la síntesis de los compuestos fenólicos solubles y su unión en la pared celular; es decir, procesos dinámicos de liberación y conjugación de fenoles (Vilcanqui-Pérez *et al.*, 2021).

5. CONCLUSIONES

Los resultados indican una amplia variabilidad en el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante entre los germinados obtenidos de los diferentes genotipos de frijol.

El Gen 3 tiene mayor capacidad antioxidante para la estabilidad del radical DPPH, mientras Gen 1 y Gen 4 mayor asociación al ABTS, esto indica una variabilidad de compuestos liposolubles e hidrosolubles en los extractos de fenólicos obtenidos para cada uno de los extractos derivados de los germinado.

Los geminados de frijol son fáciles de producir, y representan un alimento con alta concentración de compuestos funcionales benéficos para la salud humana.

6. LITERATURA CITADA

- Arrieta-Miranda, A. 2021. Importancia de los germinados para el consumo humano. Tesis de licenciatura. Universidad de Santander. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Agropecuarias. 59p.
- Avalos, A y Pérez, E. 2009. Metabolismo secundario de plantas. REDUCA (Biología), 2(3).
- Barrón-Yáñez, M. R., Villanueva-Verduzco, C., García-Mateos, M. R., y Colinas-León, M. T. 2009. Valor nutricional y contenido de saponinas en germinados de huauzontle (*Chenopodium nuttalliae* Saff.), calabacita (*Cucurbita pepo* L.), canola (*Brassica napus* L.) y amaranto (*Amaranthus leucocarpus* S. Watson syn. *hypochondriacus* L.). Revista Chapingo. Serie horticultura, 15(3), 237-243.
- Castro-Ortiz, J. P., y Rodríguez-Chía, L. D. 2021. Evaluación del aporte nutricional y riesgos para la salud asociados al consumo de germinados.
- Chavarrias, M. 2013. Germinar en casa sin riesgos. Eroski Consumer.
- Dewick, P. M. 2002. Medicinal natural products: a biosynthetic approach: John Wiley & Sons.
- Dziki, D., Gawlik-Dziki, U., Kordowska-Wiater, M., and Domań-Pytka, M. 2015. Influence of elicitation and germination conditions on biological activity of wheat sprouts. *Journal of Chemistry*, 2015.
- Feng P. 1997. A Summary of Background Information and Foodborne Illness Associated With the Consumption of Sprouts. Center for Food Safety and Applied Nutrition. Washington.

- Gan, R. Y., Lui, W. Y., Wu, K., Chan, C. L., Dai, S. H., Sui, Z. Q., and Corke, H. 2017. Bioactive compounds and bioactivities of germinated edible seeds and sprouts: An updated review. *Trends in Food Science & Technology*, 59, 1-14.
- García Reyes, E., Flores Naveda, A., Ruiz Torres, N., Camposeco Montejó, N., Ramírez Barrón, S. N., and García López, J. I. 2022. Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de genotipos de maíz pigmentado (azul/morado). *REPOSITORIO NACIONAL CONACYT*.
- Hernandez-Aguilar, C., Dominguez-Pacheco, A., Palma Tenango, M., Valderrama-Bravo, C., Soto Hernández, M., Cruz-Orea, A., and Ordonez-Miranda, J. 2020. Lentil sprouts: A nutraceutical alternative for the elaboration of bread. *Journal of food science and technology*, 57(5), 1817-1829.
- Khang, D. T., Dung, T. N., Elzaawely, A. A., & Xuan, T. D. 2016. Phenolic profiles and antioxidant activity of germinated legumes. *Foods*, 5(2), 27.
- 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.
- Lopez-Cruz, J. 2022. Polifenoles y Capacidad Antioxidante de Germinados de Frijol (*Phaseolus vulgaris*). Requisito parcial para obtención de título. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
- Martin, L. 2005. Más Energía Y Salud Con Los Germinados (Vol. 2). Oceano Ambar.
- Mendoza, M. 2018. Inducción De Metabolitos De Interés Nutracéutico En Germinados De Frijol (*Phaseolus Vulgaris* L.) Y El Efecto De Su Consumo En Un Modelo De Dislipidemia. Universidad Autonoma De Querétaro.
- Muñoz-Llandes, C. B., Guzmán-Ortiz, F. A., González Olivares, L. G., Palma-Rodríguez, H. M., Román-Gutiérrez, A. D., y Castro-Rosas, J. 2021. Germinación: un método de

bioproceso que incrementa la calidad nutricional, biológica y funcional de harinas de leguminosas. *Pädi Boletín Científico De Ciencias Básicas E Ingenierías Del ICBI*, 9(Especial2), 119-122. (<https://doi.org/10.29057/icbi.v9iEspecial2.7971>).

Paulsmeyer, M., Chatham, L., Becker, T., West, M., West, L., and Juvik, J. 2017. Survey of anthocyanin composition and concentration in diverse maize germplasms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(21), 4341-4350.

Prokopowich D, Blank G. 1991. Microbiological evaluation of vegetable sprouts and seeds. *J Food Prot*; 54: 560-562.

Quintanar-Escorza, M. A., y Calderon-Salinas, J. V. 2009. La capacidad antioxidante total. Bases y aplicaciones. *Revista de educación bioquímica*, 28(3), 89-101.

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.

Rodriguez N, 2021, 20 de julio. ¿Qué es el germinado de frijol y sus beneficios? p. 1. Periodico El Universal. Octubre 2022. Disponible en: (<https://www.eluniversal.com.mx/menu/esto-es-lo-que-puedes-hacer-con-el-germinado-de-frijol>).

Ruiz-Benitez, M. L. 2020. Determinación de la actividad antioxidante.

Thompson, S y Powell, D. A. 2000. Risks associated with the consumption of fresh sprouts. *Food Saf. Netw. Tech. Rep*, 2000, 16.

Unate-Fraga, S., García-López, J.I., Flores-Naveda, A., Norma, R. T., Ramirez-Barron, S., Hernandez-Juarez, A., and Tafolla-Arellano, J.C. 2022. Grain yield, nutritional,

polyphenols and antioxidant capacity in accessions of sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 50(1), 12637-12637.

Vilcanqui-Pérez, F., Chaquilla-Quilca, G., Sarmiento-Casavilca, V. H., Céspedes-Orosco, C. N., Ventura-Saldívar, Y., & Cortés-Avenidaño, P. 2021. Efecto del germinado sobre las características nutricionales, propiedades bioactivas y funcionales de basul (*Erythrina edulis*). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*.