



Universidad Autónoma de Sinaloa
Facultad de Ciencias Químico Biológicas
Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Identificación de Compuestos Fenólicos
Relacionados con la Actividad Antioxidante en
Genotipos de Garbanzo (*Cicer arietinum* L.)

TESIS

Que presenta

IBQ. Ana Glenda Saracho Peña

Para obtener el grado de

MAESTRA EN CIENCIA

Y

TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Directores

DR. JOSÉ ÁNGEL LÓPEZ VALENZUELA

MC. JEANETT CHÁVEZ ONTIVEROS

Culiacán, Sinaloa, México

Enero de 2018.

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular del Posgrado en Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Sinaloa, bajo la dirección del Dr. José Ángel López Valenzuela y la MC. Jeanett Chávez Ontiveros, así como la asesoría de la Dra. Karen Virginia Pineda Hidalgo, la Dra. Nancy Yareli Salazar Salas y la MC. María Fernanda Quintero Soto. Contó con financiamiento del Programa de Fomento y Apoyo a Proyectos de Investigación (PROFAPI) de la Universidad Autónoma de Sinaloa. La IBQ. Ana Glenda Saracho Peña recibió beca de estudios de Maestría del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA

CARTA CESION DE DERECHOS

En la Ciudad de Culiacán de Rosales, Sinaloa el día 16 del mes enero del año 2018, el (la) que suscribe IBQ. Ana Glenda Saracho Peña alumno (a) del Programa de Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos con número de cuenta 0606406-1, de la Unidad Académica Facultad de Ciencias Químico Biológicas, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de Dr. José Angel López Valenzuela y MC. Jeanett Chávez Ontiveros y cede los derechos del trabajo titulado “Identificación de compuestos fenólicos relacionados con la actividad antioxidante en genotipos de garbanzo (*Cicer arietinum* L.)”, a la Universidad Autónoma de Sinaloa para su difusión, con fines académicos y de investigación por medios impresos y digitales.

La Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México) protege el contenido de la presente tesis. Los usuarios de la información contenida en ella deberán citar obligatoriamente la tesis como fuente, dónde la obtuvo y mencionar al autor intelectual. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

IBQ. Ana Glenda Saracho Peña

Agradecimientos

A la **Universidad Autónoma de Sinaloa**, al programa de **Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos (MCTA)**, a la **Facultad de Ciencias Químico Biológicas (FCQB)** y en especial a todos los profesores que forman parte de su planta docente, gracias por sus enseñanzas, consejos y por contribuir en mi formación académica aportando sus conocimientos.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)** y al **Programa de Fomento y Apoyo a la Investigación (PROFAPI)** de la Universidad Autónoma de Sinaloa por el apoyo económico otorgado durante la realización de este trabajo.

A mis directores de tesis el **Dr. José Ángel López Valenzuela** y la **MC. Jeanett Chávez Ontiveros**, por quienes siento un gran respeto y admiración, muchas gracias por permitirme nuevamente ser parte de su equipo de trabajo, por estar siempre al pendiente de mi persona, de la realización de este trabajo, por sus consejos, tiempo y su constante apoyo durante esta etapa de mi vida *¡Muchas gracias, son grandes ejemplos a seguir!*.

A la **Dra. Karen Virginia Pineda Hidalgo** y la **Dra. Nancy Yareli Salazar Salas** quienes siempre estuvieron presentes para ofrecerme su ayuda cuando lo necesitara, gracias por darme tu amistad, sus consejos y su apoyo, los cuales ayudaron a que no me desanimara y siguiera adelante, *¡Muchas gracias por su tiempo, dedicación y cariño!*

A la **MC. Maria Fernanda Quintero Soto** muchas gracias por todo tu apoyo, amistad, comprensión, tus consejos y tu tiempo para ayudarme en la realización de este trabajo, sin ti este trabajo no habría sido igual *¡Muchas gracias por todo tu apoyo, eres de lo mejor!*

A mis compañeros de laboratorio **Maria Fernanda, Erika, Elthon, Milton, David, Dennise, Alexis, Christian, Itzel, Alex y Cynthia**, muchas gracias por todo su apoyo y darle sus dosis de comedia al trabajo ayudando a hacer la vida en el laboratorio más alegre, haciendo del laboratorio un segundo hogar, *¡Todos ustedes son mi segunda familia!*

A mis compañeros de generación **Agustín, Marco, Denisse, Carolina, Perla, Maleny, Briseida** con quienes inicié este viaje, estude y compartí momentos de estrés y alegría, gracias por su apoyo y amistad. A mis amigos **Dulce, Manuel, Ayón y Lily** por escucharme y apoyarme durante todos estos años de amistad, llenando nuestras reuniones de risas y alegría.

A mis padres, **Maria Guadalupe** y **Juan de Dios**, gracia por creer en mí y por su apoyo incondicional para la realización de este sueño y poder cumplir con mis metas, por escucharme y por estar dispuestos a llevarme y traerme a donde pidiera sin importar la hora o día, *¡Los amo con todo mi corazón y son mi gran ejemplo!*, a mi hermano **Jesús Ignacio** por su manera tan única de mostrar apoyo para seguir adelante y su único sentido del humor.

Gracias a Dios y a todas las personas que contribuyeron a la realización de este sueño y permitieron que fuera posible.

ÍNDICE

	Pág.
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
ÍNDICE DE CUADROS	v
I RESUMEN	1
ABSTRACT	3
II INTRODUCCIÓN	5
III REVISIÓN DE LA LITERATURA	7
A GENERALIDADES DEL GARBANZO	7
1 Origen y aspectos botánicos	7
2 Estructura del grano de garbanzo y sus genotipos	10
3 Importancia económica	15
B COMPOSICIÓN QUÍMICA Y COMPUESTOS BIOACTIVOS DEL GARBANZO	19
1 Composición química del grano	19
a Carbohidratos	19
b Proteínas	21
c Lípidos	22
2 Compuestos bioactivos	23
C COMPUESTOS FENÓLICOS	25
1 Estructura y biosíntesis	25
2 Actividad biológica	30
3 Compuestos fenólicos identificados en garbanzo	32

D	ESTRÉS OXIDATIVO	36
	1 Efectos del estrés oxidativo sobre la salud	37
	2 Mecanismos de defensa contra el estrés oxidativo	39
	3 Antioxidantes en los alimentos	40
IV	JUSTIFICACIÓN	43
V	OBJETIVOS	44
	A OBJETIVO GENERAL	44
	B OBJETIVOS ESPECÍFICOS	44
VI	MATERIALES Y MÉTODOS	45
	A MATERIALES	45
	B MÉTODOS	45
	1 Obtención de harinas	45
	2 Preparación de extractos metanólicos	45
	3 Actividad antioxidante	47
	a ABTS	47
	b DPPH	48
	c FRAP	48
	4 Contenido de fenólicos totales	49
	5 Perfil de compuestos fenólicos	50
	a Separación e identificación	50
	b Cuantificación	51
	6 Asociación de los compuestos fenólicos con la actividad antioxidante	51

	7 Análisis estadístico	51
VII	RESULTADOS	53
	A ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS METANÓLICOS DE GARBANZO	53
	B CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE EXTRACTOS METANÓLICOS DE GARBANZO	56
	1 Contenido de fenólicos totales	56
	2 Identificación de compuestos fenólicos	58
	3 Cuantificación de compuestos fenólicos identificados	72
	a Ácidos fenólicos	72
	b Flavonoides	75
	C ASOCIACIÓN ENTRE COMPUESTOS FENÓLICOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE	79
VIII	CONCLUSIONES	87
IX	BIBLIOGRAFÍA	88
	ABREVIATURAS	101

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig.	Descripción	Pág.
1	Partes aéreas de una planta de garbanzo.	9
2	Estructura del grano de garbanzo.	11
3	Granos de genotipos de garbanzo.	13
4	Esquema de las principales etapas de la ruta de biosíntesis de (poli) fenoles.	27
5	Estructuras genéricas de los principales flavonoides.	29
6	Separación cromatográfica (UPLC-DAD) de compuestos fenólicos de extractos metanólicos de los genotipos ICC 5383 (A) y Hoga 340 (B).	59
7	Espectros UV-Visible característicos de distintos tipos de compuestos fenólicos.	61
8	Espectro de masas MS ² del ión de $m/z = 137$ del ácido <i>p</i> -hidroxibenzoico.	67
9	Patrón de fragmentación de Isoramnetina 3- <i>O</i> - β -D-glucopiranosido.	70
10	Análisis de componentes principales de 18 genotipos de garbanzo usando la actividad antioxidante (ABTS, DPPH, FRAP) y el contenido de ácidos hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos, flavan-3-oles, isoflavonas y flavonoles.	81
11	Estructuras de los principales compuestos fenólicos identificados en los extractos metanólicos de garbanzo.	85

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Descripción	Pág.
1	Principales países productores de garbanzo (2016).	16
2	Principales estados productores de garbanzo en México (2016).	18
3	Composición química del grano de garbanzo.	20
4	Compuestos fenólicos identificados en garbanzo.	33
5	Genotipos de garbanzo (<i>Cicer arietinum</i> L.)	46
6	Actividad antioxidante de extractos metanólicos de genotipos de garbanzo.	54
7	Contenido de fenólicos totales en los genotipos de garbanzo.	57
8	Compuestos fenólicos identificados por UPLC-ESI-MS en extractos metanólicos de genotipos de garbanzo.	63
9	Contenido de ácidos fenólicos en los extractos metanólicos de los genotipos de garbanzo.	73
10	Contenido de flavonoides en los extractos metanólicos de los genotipos de garbanzo.	76
11	Actividad antioxidante de estándares de compuestos fenólicos evaluados a la concentración encontrada en los extractos metanólicos de ICC 4418 y 50 µmol/L.	83

I RESUMEN

En México, el estado de Sinaloa es el principal productor y exportador de garbanzo, una de las leguminosas más importantes en el mundo al ser una buena fuente de carbohidratos, proteínas y compuestos bioactivos. Los fenólicos son uno de los principales compuestos bioactivos en garbanzo, los cuales son sintetizados normalmente en respuesta a diferentes tipos de estrés y actúan principalmente como antioxidantes. Dentro de los beneficios a la salud de los compuestos fenólicos asociados con su capacidad antioxidante se encuentran la actividad antiinflamatoria, apoptótica, antienvejecimiento, protección vascular, anticancerígena y antidiabética. Diversas investigaciones en garbanzo han demostrado su actividad antioxidante pero existen pocos estudios que relacionen esta actividad con componentes fenólicos específicos. Por ello, el objetivo del presente trabajo fue identificar compuestos fenólicos asociados con la actividad antioxidante de genotipos de garbanzo (*Cicer arietinum* L.). Se utilizaron 18 genotipos (9 desi y 9 kabuli), de los cuales se obtuvieron extractos metanólicos que fueron caracterizados en su contenido y perfil de compuestos fenólicos por cromatografía de líquidos de alta resolución con detectores de arreglo de diodos y de espectrometría de masas; además se evaluó su contenido de fenólicos totales, así como su actividad antioxidante *in vitro* mediante los métodos ABTS, DPPH y FRAP. Los extractos metanólicos presentaron actividades antioxidantes promedio de 353.4 y 1420.5 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ por ABTS, 136.9 y 839.0 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ por DPPH, 103.8 y 501.3 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ por FRAP para los garbanzos tipo kabuli y desi, respectivamente. Su contenido de fenólicos totales varió de 27.1 a 49.3 mg

EAG/100 g para los kabuli y de 24.1 a 362.0 mg EAG/100 g para los desi. Se observó una correlación positiva entre el contenido de fenólicos totales y la actividad antioxidante por DPPH ($r=0.949$, $p<0.001$), ABTS ($r=0.928$, $p<0.001$) y FRAP ($r=0.988$, $p<0.001$). Se identificaron un total de 20 compuestos fenólicos en los extractos metanólicos, observándose una amplia variabilidad en su contenido, siendo los ácidos fenólicos y los flavonoides los más abundantes en los garbanzos kabuli y desi, respectivamente. La actividad antioxidante de los genotipos de garbanzo fue asociada principalmente con el contenido de los ácidos fenólicos sinápico hexósido y gálico, así como de los flavonoides miricetina, quercetina, catequina e isoramnetina. La suma de actividades antioxidantes obtenida para estándares de estos compuestos evaluados a la concentración del extracto contribuyó con el 34.3%, 69.8%, and 47.0% de la actividad antioxidante del extracto por ABTS, DPPH y FRAP, respectivamente. Tres genotipos con granos negros (ICC 4418, ICC 6306, ICC 3761) mostraron la mayor actividad antioxidante y contenido de flavonoides, mientras que los genotipos kabuli que mostraron los valores más altos de ácidos fenólicos fueron Surutato 77, Bco. Sin. 92 y Blanoro. Estos genotipos representan una buena fuente de antioxidantes para el mejoramiento de propiedades nutraceuticas en garbanzo.

ABSTRACT

In Mexico, the state of Sinaloa is the main producer and exporter of chickpea, one of the most important legumes in the world because it is a good source of carbohydrates, proteins and bioactive compounds. Phenolics are one of the main bioactive compounds in chickpea, which are usually synthesized in response to different types of stress and they act mainly as antioxidants. Some of the health benefits of phenolic compounds associated with their antioxidant capacity include anti-inflammatory, apoptotic, anti-aging, vascular protection, anticancer and antidiabetic activity. Several investigations in chickpea have demonstrated its antioxidant activity but there are few studies that relate this activity with specific phenolic components. Therefore, the objective of the present work was to identify phenolic compounds associated with the antioxidant activity of chickpea genotypes (*Cicer arietinum* L.). Eighteen genotypes (9 desi and 9 kabuli) were used to prepare methanol extracts. The extracts were characterized for phenolic content and profiles by high resolution liquid chromatography coupled with diode array and mass spectrometry detectors; they were also evaluated for their antioxidant activity using the ABTS, DPPH and FRAP methods. The methanol extracts showed average antioxidant activities of 353.4 and 1420.5 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$ by ABTS, 136.9 and 839.0 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$ by DPPH, 103.8 and 501.3 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$ by FRAP for the kabuli and desi types, respectively. Total phenolics content ranged from 27.1 to 49.3 mg GAE/100 g for kabuli and 24.1 to 362.0 mg GAE/100 g for desi. A positive correlation was observed between total phenolic content and antioxidant activity by DPPH ($r=0.949$, $p<0.001$), ABTS ($r=0.928$, $p<0.001$) and FRAP ($r=0.988$, $p<0.001$).

A total of 20 phenolic compounds were identified in the methanol extracts, which showed a wide variability among the genotypes; phenolic acids and flavonoids were the most abundant compounds in kabuli and desi genotypes, respectively. The antioxidant activity was mainly associated with the content of the phenolics sinapic acid hexoside and gallic acid, as well as the flavonoids myricetin, quercetin, catechin, and isorhamnetin. The sum of the AA obtained for standards of these compounds evaluated at the concentration found in the extracts accounted for 34.3%, 69.8%, and 47.0% of the AA in the extract by ABTS, DPPH, and FRAP, respectively. Three desi genotypes with black seeds (ICC 4418, ICC 6306, and ICC 3761) showed the highest AA and flavonoids content, whereas the most promising kabuli genotypes were Surutato 77, Bco. Sin. 92, and Blanoro that showed the highest values of phenolic acids. These genotypes represent good sources of antioxidants for the improvement of nutraceutical properties in chickpea.

II INTRODUCCIÓN

El cultivo de garbanzo (*Cicer arietinum* L.) es uno de los más importantes a nivel mundial con una producción en el año 2016 de 12,092,950 ton, de las cuales México contribuyó con 121,567 ton ocupando el noveno lugar (FAOSTAT 2017). Esta leguminosa posee un alto valor nutritivo en la dieta humana, ya que es una buena fuente de carbohidratos, proteínas, ácidos grasos insaturados, vitaminas y minerales (Wood y Grusak 2007); además contiene compuestos bioactivos que pueden ofrecer beneficios significativos a la salud a largo plazo (Aguilera y col 2011), entre los que se destacan los compuestos fenólicos.

Los compuestos fenólicos representan uno de los grupos de metabolitos secundarios más abundantes en las leguminosas y son considerados como antioxidantes naturales (Dueñas y col 2004). Estos compuestos reaccionan con radicales libres cediéndoles un electrón o protón, por lo que se oxidan y se transforman en radicales libres débiles, con escasos o nulos efectos tóxicos.

En leguminosas los principales compuestos fenólicos son los flavonoides, ácidos fenólicos y procianidinas (Zhao y col 2014), los cuales presentan varias actividades biológicas como lo son actividad antioxidante, antiinflamatoria y antimicrobiana (Singh y col 2017). Los genotipos de garbanzo presentan una gran variación en el contenido de fenólicos totales y actividad antioxidante, pero los valores más altos se han observado en genotipos tipo desi con granos pequeños y de color oscuro comparado con los de tipo kabuli con granos grandes y de color crema o blanco (Segev y col 2010; Heiras-Palazuelos y col 2013). Sin embargo, pocos estudios han relacionado compuestos fenólicos individuales con la actividad

antioxidante en garbanzo. Sreerama y col (2010) determinaron la composición de fenólicos de las principales fracciones del grano en un garbanzo de la India y encontraron la mayor proporción de los flavonoles miricetina, quercetina y kaempferol en la testa, la cual también presentó la mayor actividad antioxidante. Aguilera y col (2011) reportaron que las isoflavonas fueron los principales fenólicos en dos garbanzos tipo kabuli y mostraron la mayor influencia en la actividad antioxidante. Por otro lado, los ácidos hidroxibenzoicos, isoflavonoides y flavonoles fueron los principales fenólicos identificados en siete cultivares de garbanzo de Egipto (Mekky y col 2015), mientras que en cinco genotipos kabuli de Europa solo se detectaron ácidos fenólicos (Magalhães y col 2017).

El programa de mejoramiento de garbanzo del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) ha desarrollado con éxito genotipos de garbanzo con granos extra grandes y altamente competitivos en el mercado de exportación (Valenzuela Herrera y col 2016). Sin embargo, existe poca información acerca de la composición de fenólicos y actividad antioxidante del germoplasma de garbanzo de México, siendo Blanco Sinaloa 92 el único genotipo investigado (Aguilera y col 2011). Por otro lado, los genotipos desi son usados principalmente para la alimentación animal en México a pesar de su alto contenido de fenólicos y actividad antioxidante (Segev y col 2010; Heiras-Palazuelos y col 2013). El objetivo del presente estudio fue identificar compuestos fenólicos asociados con la actividad antioxidante de una selección de genotipos de garbanzo tipo kabuli de INIFAP y desi del banco de germoplasma de ICRISAT.

III REVISIÓN DE LITERATURA

A GENERALIDADES DEL GARBANZO

1 Origen y aspectos botánicos

Alrededor de 11,000 años atrás los humanos domesticaron diversas especies de plantas en el suroeste de Asia y las utilizaron para sus necesidades (Kerem y col 2007). Se piensa que la agricultura se originó con un grupo de siete cultivos a los que se les denominó “paquete de cultivos fundadores”, entre los cuales se encuentra el garbanzo (Zohary y Hopf 2000), que fue domesticado en el “Fertile Crescent” (Zona en el Medio Oriente que se extiende desde la costa oriental del Mediterráneo hasta el Golfo Pérsico) junto con los otros cultivos fundadores como trigo, cebada, chícharo y lenteja (Zohary y col 2012).

El garbanzo es originario del medio oriente, más probablemente del área del Sureste de Turquía y áreas cercanas a Siria, debido a que en estas regiones existen diversas especies silvestres de *Cicer*, entre ellas *Cicer reticulatum* que es considerado el progenitor del garbanzo cultivado, así como su especie hermana *Cicer echinospermum*, además de que estas tres especies de garbanzo comparten las mismas características morfológicas y solo presentan pequeñas diferencias, lo cual ha sido comprobado mediante estudios genéticos (Ladizinsky y Adler 1976; Singh 1997; Varma Penmetsa y col 2016). Existen registros arqueológicos neolíticos en Siria donde se han encontrado semillas y fragmentos de *Cicer arietinum*, los cuales indican que el cultivo de garbanzo ocurrió hace unos 10,000 años a.c. y posteriormente se expandió del medio oriente al sur de Asia hace 4,000 años y a Etiopia hace 2,300 años (Tano y Wilcox 2006; Redden y Berger

2007). Con la llegada de los españoles a América se considera que Cristóbal Colón introdujo el garbanzo a América en su segundo viaje, en Las Antillas donde los españoles realizaron los primeros cultivos para el establecimiento de dicha leguminosa, con resultados poco alentadores debido a las condiciones y factores climáticos desfavorables. Posteriormente fue traído a México encontrando un potencial ecológico favorable que permitió que se desarrollara con éxito (ASERCA 1997).

El garbanzo pertenece a la familia FABACEAE, subfamilia Papilionoides, tribu Cicereae, género *Cicer*, del cual existen 43 especies reportadas, 9 anuales y 34 perennes (Taylor y Ford 2007; Singh y col 2008), siendo *Cicer arietinum* L. la única especie domesticada y de importancia agronómica y económica (Crispín y López 1976).

La planta de garbanzo (Figura 1A) presenta una altura que va de 20 a 100 cm y pueden crecer de forma erecta, semi-erecta, esparcida, semi-esparcida o postrada. Su follaje está cubierto con vellos glandulares que secretan fluidos altamente ácidos que contienen ácido málico, oxálico y cítrico, los cuales otorgan a la planta tolerancia a insectos. Sus hojas son compuestas y están alternadas de 11 a 19 foliolos y tienen forma oval-oblonga a elíptica con márgenes dentados. Las flores son auxiliares, solitarias o en inflorescencias de dos a tres, sus pétalos están veteados y pueden ser de color rosa, purpura, rojo, blanco o azul dependiendo del genotipo (Figura 1B, 1C). Las vainas tienen una longitud que oscila de 15 a 30 cm y contienen de 1 a 3 semillas las cuales varían en tamaño,

A



B



C



Figura 1. Partes aéreas de una planta de garbanzo. (A) Planta con vainas y flores. (B) Flores de genotipos kabuli. (C) Flores de genotipos desi.

forma y color. Además, la planta de garbanzo posee un sistema de raíces largas y profundas las cuales presentan nódulos simbióticos en los que se encuentran bacterias *Rhizobium* capaces de fijar nitrógeno atmosférico (Taylor y Ford 2007; ICRISAT 2017).

2 Estructura del grano de garbanzo y sus genotipos

El grano de garbanzo está constituido por una capa externa donde se presentan varias estructuras: hilio, micrópilo y rafe (Figura 2). El hilio es una cicatriz ovalada, que se sitúa en la mitad de una orilla o filo del grano y que queda cuando se separa del pedúnculo de la vaina. El micrópilo es una pequeña abertura en la cubierta del grano, a un lado del hilio, que es el lugar donde el tubo polínico entra en el óvulo. El rafe es una pequeña costilla al lado del hilio, opuesta al micrópilo y representa la base del pedúnculo que en la madurez se encuentra fundido con la cubierta seminal (Cubero 1987). Otros de los componentes del grano de garbanzo son la testa y el embrión. La primera representa del 5-6% del peso del grano seco, mientras que el embrión es la fracción de mayor tamaño del grano y está compuesto de dos cotiledones unidos en su superficie y que representan del 83-84% (Chavan y col 1989; Wood y col 2011).

La testa es la capa exterior del grano que cubre el embrión y actúa como una cubierta protectora, está formada por una cutícula que cubre una pared de células prismáticas contiguas llamadas células de empalizada dentro de las cuales se

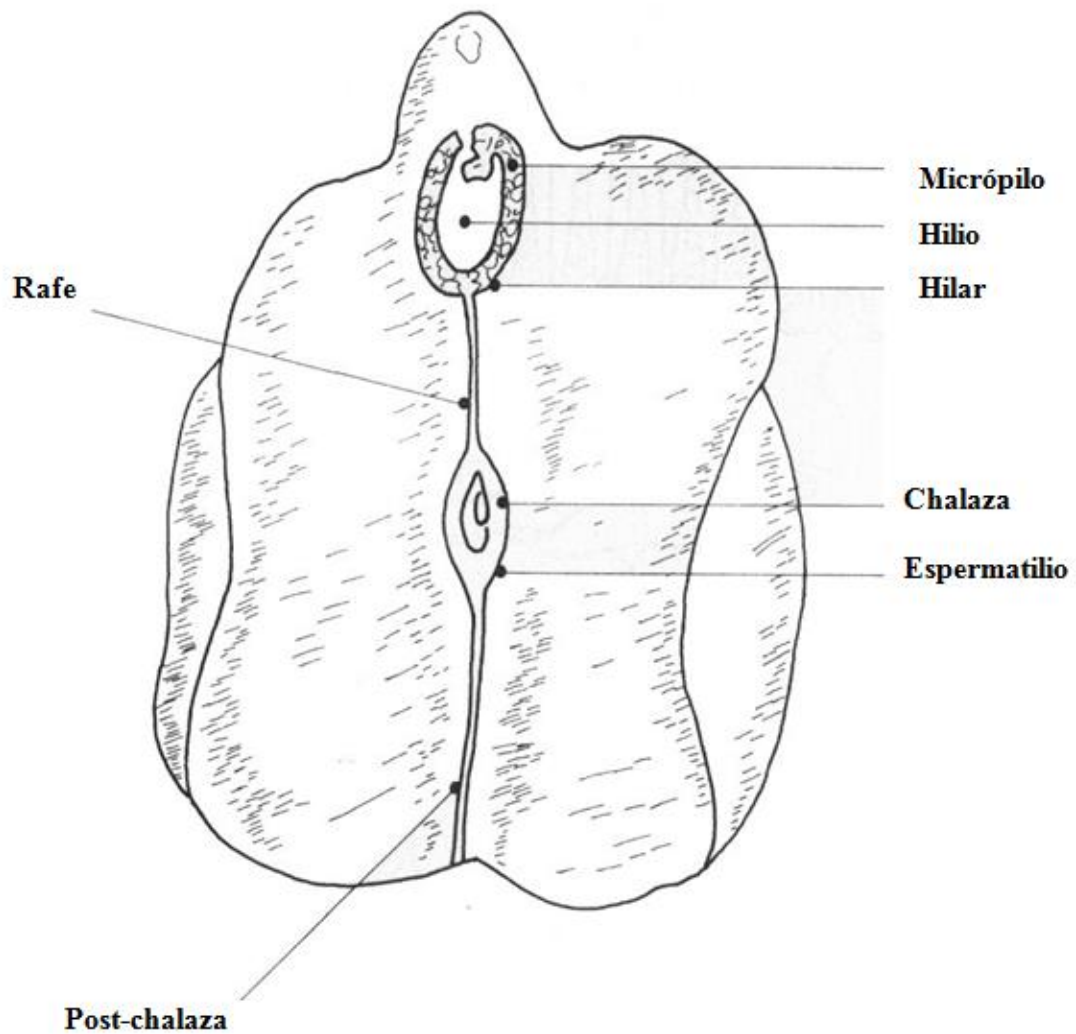


Figura 2. Estructura del grano de garbanzo.

Fuente: Cubero (1987)

encuentran los pigmentos que dan color a la testa. La dureza o impermeabilidad de la testa es causada por la contracción de las paredes de estas células, las cuales son gruesas, están lignificadas y contienen polisacáridos de β -glucano, que le dan rigidez (Wood y col 2011).

Los cotiledones están compuestos de numerosas células parenquimatosas, cuyo tamaño varía de 70 a 100 μ m, las cuales están unidas por la pared celular y la lámina media, y ocasionalmente agregados vasculares compuestos por un gran número de células densamente empacadas. Cada cotiledón tiene una capa de células epidérmicas, las cuales están llenas de proteína y sus paredes periféricas son gruesas, mientras que las células debajo de esta capa son de mayor tamaño, contienen pequeños gránulos de almidón y se encuentran rodeadas por una matriz de proteínas. La estructura interna de los cotiledones está compuesta por células parenquimatosas que contienen numerosos gránulos de almidón rodeados de proteína (Stanley y Aguilera 1985; Wood y col 2011).

Existe una gran variación dentro de los garbanzos cultivados, principalmente en las características de las semillas, las cuales reflejan las preferencias culturales, tales como tamaño, forma, grosor de la testa y color del grano, y en base a estas que el garbanzo cultivado es categorizado. El garbanzo se divide tradicionalmente en dos tipos, desi y kabuli, basándose principalmente en las características de la semilla (Figura 3) (Varma Penmetsa y col 2016).

El garbanzo tipo desi es un grano más pequeño en tamaño y peso (0.1–0.3 g), colorido (amarillo, rojo, café, negro, etc.), su testa es más gruesa, y tiene forma angular. Presenta flores y tallos pigmentados, con colores de pétalos que van de



Figura 3. Granos de genotipos de garbanzo. (A) Tipo desi; (B) Tipo kabuli.

rosa a violeta y en menor frecuencia azul. Este tipo de garbanzo es originario de la India y su cultivo en Asia del sur y África Sub-sahariana ha predominado históricamente. En México, es utilizado principalmente para la alimentación animal, mientras que en Asia y África es mayormente consumido como grano entero, en distintos tipos de platillos como estofados, sopas/ensaladas o productos tradicionales, fermentados, fritos, rostizados y endulzados (Chavan y col 1987; Hirdyani 2014; Varma Penmetsa y col 2016).

Por otro lado, el garbanzo tipo kabuli es asociado con granos de color blanco o crema, de mayor tamaño y peso (0.2-0.6 g), con forma redondeada y testas delgadas. Sus flores son de color blanco, aunque pueden tener venas pigmentadas. Este tipo de garbanzo es mayormente consumido como grano entero en el oeste de Asia y regiones mediterráneas donde es común (Wood y col 2011; Varma Penmetsa y col 2016).

Existe un tercer tipo de garbanzo el cual se le ha denominado “pea”, este se caracteriza por que sus semillas son de forma redondeada, casi esférica, su tamaño va de pequeño a mediano y pueden ser de cualquier color desde el beige claro al negro, incluyendo el verde. Este tipo de garbanzo se encuentra representado en colecciones de germoplasma y es frecuente en programas de mejoramiento, particularmente en los que se cruzan los tipos kabuli y desi, sin embargo carece de importancia económica y es raro encontrarlo en el mercado (ICRISAT 1980; IBPGR, ICRISAT y ICARDA 1993; Knights y col 2011; Sastry y col 2014).

Se piensa que el garbanzo tipo desi se originó primero, debido a que en un estudio en el que se analizaron más de 23 poblaciones (>1000 individuos) de *Cicer* anuales silvestres, *C. reticulatum* y su especie hermana *C. echinospermum*, no se encontraron individuos con flores blancas; lo cual apoya la teoría de que el tipo kabuli es producto de una mutación y la selección de semillas y flores de color blanco durante su domesticación (Varma Penmetsa y col 2016).

3 Importancia económica

En la actualidad el garbanzo se encuentra distribuido a través del mundo y es cultivado en más de 50 países, principalmente en los países en desarrollo, los cuales contribuyen con más del 90% de la producción mundial que en el año 2016 fue de 12,092,950 ton, colocando al garbanzo como la tercera leguminosa más producida a nivel mundial, después de la soya y el frijol. La India es el principal país productor con cerca del 65% de la producción total, seguido por Australia y Pakistán, mientras que México ocupa el noveno lugar con aproximadamente 121,567 ton en este mismo año (Cuadro 1). Además, México es uno de los principales países exportadores de garbanzo ocupando el cuarto lugar a nivel mundial después de Australia, India y Rusia (FAOSTAT 2017).

El garbanzo blanco es un cultivo importante en el Noroeste de México y se siembra mayormente en los estados de Sinaloa, Sonora y Baja California Sur, destinándose principalmente a exportación; Sonora y Sinaloa cultivan granos de garbanzo de más alta calidad, el cual se caracteriza por ser grande, blanco y rugoso (Gómez 1990).

Cuadro 1. Principales países productores de garbanzo (2016).

País	Producción (Ton)
India	7,818,984
Australia	874,593
Myanmar	559,390
Pakistán	517,107
Turquía	455,000
Etiopía	444,146
Rusia	319,908
Irán	177,493
México	121,567
Estados Unidos de América	107,542
Otros países	697,220
Total	12,092,950

Fuente: FAOSTAT (2017)

Cabe señalar que el Noroeste de México es la zona productora más importante aportando un 75% de la producción nacional, siendo Sinaloa el principal estado productor con 51,601 ton en el año 2016 (Cuadro 2) (SIAP-SAGARPA 2017).

Debido a la importancia económica del cultivo de garbanzo desde 1961 se iniciaron trabajos para su mejoramiento genético, los cuales ha permitido liberar variedades mejoradas obtenidas por selección individual, principalmente en garbanzo blanco. Durante la segunda parte de la década de los setenta y primera de los ochenta se obtuvieron variedades como Surutrato 77, Sonora 80 y Santo Domingo 82, Tubatama 88, Mocerito 88, Blanco-Sinaloa 92, Hermosillo 93 y Pictic 93, las cuales además de tener alto rendimiento y calidad de grano, presentan un buen nivel de resistencia al ataque del hongo *Fusarium*. Han sido tan exitosos los programas de investigación y mejoramiento genético que se estima que aproximadamente el 95% de la superficie nacional sembrada con garbanzo es de variedades generadas en el país (ASERCA 1997).

Con el trabajo de INIFAP en los últimos años se han liberado nuevas variedades como Progreso 95, Jamu 96, Évora 98, Blanoro, Suprema 03 Costa 2004, Blanoro y Jumbo 2010. Estas variedades poseen una mayor resistencia contra ataques de patógenos y rabia, buen rendimiento, calibre y características que facilitan posicionamiento y aceptación en los distintos tipos de mercados alrededor del mundo (Salinas y col 2008).

Cuadro 2. Principales estados productores de garbanzo en México (2016).

Estado	Producción (ton)
Sinaloa	51,601
Sonora	35,348
Michoacán	17,771
Guanajuato	5,828
Baja California Sur	4,041
Otros estados	6,978
Total	121,567

Fuente: SIAP-SAGARPA (2017)

B COMPOSICIÓN QUÍMICA Y COMPUESTOS BIOACTIVOS DEL GARBANZO

1 Composición química del grano

El garbanzo posee un alto valor nutritivo en la dieta humana, ya que es una buena fuente de carbohidratos, proteínas, ácidos grasos insaturados, minerales (Ca, Fe, Cu, Zn, P, K, Mg) y vitaminas (niacina, tiamina, ácido ascórbico) (Cuadro 3) (Ladizinsky 1995), esto lo hace un componente importante de las dietas de individuos que no tiene los recursos para consumir proteína animal o son vegetarianos. También posee varios compuestos bioactivos los cuales juegan papeles metabólicos en la salud de quienes los consumen frecuentemente, como la prevención de enfermedades cardiovasculares (Campos-Vega y col 2010; Jukanti y col 2012).

a) Carbohidratos

Los carbohidratos representan los componentes mayoritarios del grano de garbanzo y su contenido varía entre 50.6 y 70.9%, siendo el almidón el principal componente. El contenido de almidón en el grano varía de 37.2 a 50.8%, mientras que el garbanzo descascarado contiene 55.3 a 58.1%. El contenido de amilosa varía de 31.8 a 45.8% del total del almidón y el porcentaje restante es amilopectina (Singh 1985; Chavan y col 1989). El almidón en garbanzo se puede dividir en tres fracciones con base en su digestibilidad: almidón de rápida digestión (19-24%), almidón de lenta digestión (41-47%) y almidón resistente (33-35%); el almidón de lenta digestión provoca una entrada de glucosa al torrente sanguíneo

Cuadro 3. Composición química del grano de garbanzo.

Parámetro	Tipo desi		Tipo kabuli	
	Mín.	Máx.	Mín.	Máx.
Proteína ^a	16.70	30.67	12.60	29.00
Cenizas ^a	2.04	4.20	2.00	3.90
Lípidos ^a	2.90	7.42	3.40	8.83
Ac. Linoleico(18:2) ^d	45.95	61.50	16.40	70.40
Ac. Linolénico (18:3) ^d	2.16	4.80	0.30	3.30
Carbohidratos total ^a	50.64	64.90	54.27	70.90
Almidón ^a	32.00	56.30	30.00	57.20
Amilosa ^b	20.00	41.00	23.00	47.00
Azúcares solubles ^a	5.33	11.80	6.65	7.50
Azúcares totales ^a	2.20	10.70	5.50	10.85
Fibra cruda ^a	3.70	13.00	1.17	4.95
Fibra dietaria ^a	18.40	22.70	10.60	16.63
Vitaminas				
Tiamina ^c	-	0.48	-	0.59
Niacina ^c	-	1.54	-	1.76
Vitamina E ^c	-	0.82	0.82	13.70
Minerales				
Calcio ^c	68.00	269.00	103.00	259.00
Magnesio ^c	107.40	168.00	119.00	167.00
Zinc ^c	2.20	20.00	2.00	5.40
Hierro ^c	3.00	9.80	3.00	9.80

^a Porcentaje en base seca (%; bs); ^b Porcentaje de almidón; ^c mg/100g; ^d Porcentaje de aceite

Fuente: Wood y Grusak (2007)

más lenta, lo que provoca un bajo índice glicémico en comparación con el almidón de rápida digestión, mientras que la fracción de almidón resistente no puede ser absorbida por el intestino y es fermentada en el colon (Miao y col 2009). El resto de los carbohidratos del garbanzo están constituidos por azúcares reductores y no reductores (ribosa, glucosa, galactosa y fructosa), así como fibra cruda que varía de 4.8 a 9.3% (Singh 1985).

b) Proteínas

El contenido de proteínas varía de 16.7 a 30.7% en genotipos desi y de 12.6 a 29.0% en los tipo kabuli (Wood y Grusak 2007), valores que son de 2 a 3 veces mayores que los de cereales. Las proteínas de reserva más importantes en garbanzo son las globulinas (solubles en soluciones salinas) representando un 57% de la proteína total, seguido de las glutelinas (solubles en ácidos o bases) que se encuentran en un 18%, las albúminas (solubles en agua, 12%) y las prolaminas (solubles en alcohol, 3%) (Singh y Jambunathan 1982). Las globulinas representan alrededor del 50% de las proteínas del grano y se componen de dos grandes grupos, 11S (legumina) y 7S (vicilina) (Casey y col 1993). Las proteínas 11S son las principales globulinas, cuya estructura oligomérica está formada de seis subunidades de 56-60 kDa. Su peso molecular es de aproximadamente 320-400 kDa (Casey y col 1993). Bajo condiciones de separación desnaturizantes (SDS- PAGE), la subunidad individual da lugar a un polipéptido ácido denominado α y un básico llamado β , los cuales están conectados por un enlace disulfuro (Lásztity 1996; Sánchez-Vioque y col 1999). La proteína 7S es una proteína de

reserva con peso molecular de 145-190 kDa (Casey y col 1993), cuya estructura y conformación ha sido menos estudiada que la 11S. También está presente la proteína 2S, la cual es una albúmina con peso molecular de aproximadamente 20 kDa y se compone de dos polipéptidos de 10 y 12 kDa (Vioque y col 1999). Las proteínas de garbanzo contienen cantidades significativas de todos los aminoácidos esenciales con excepción de los que contienen azufre (metionina y cisteína), por lo que estos son considerados como limitantes, aunque pueden complementarse con el consumo de cereales (Zia-UI-Haq y col 2007; Hirdyani 2014).

c) Lípidos

El grano de garbanzo cuenta con un contenido relativamente alto de grasas en comparación con otras leguminosas (Pittaway 2006). Su contenido de lípidos se encuentra en un rango de 2.90 a 7.42% en el garbanzo tipo desi y de 3.40 a 8.83% para tipo kabuli. Entre estos lípidos se encuentran ácidos grasos poliinsaturados, principalmente linoleico (omega-6), linolénico (omega-3) y oleico, los cuales representan aproximadamente un 65% de los lípidos totales, estos lípidos poliinsaturados son nutricionalmente esenciales para los seres humanos debido a que no podemos sintetizarlos; por otro lado, el ácido palmítico es el principal ácido graso saturado, lo cual es deseable para aplicaciones nutricionales (Wood y Grusak 2007; Zia-UI-Haq y col 2007). Los granos de garbanzo tipo desi contienen 46-62% de ácido linoleico mientras que en los kabuli se presenta un rango de 16-70%; el ácido linolénico varía de 2 a 5% y de 0.3 a 3% en desi y

kabuli, respectivamente. En promedio, los kabuli tienen un mayor contenido de ácido oleico y los desi de ácido linoleico (Jukanti y col 2012).

2 Compuestos bioactivos

Las plantas sintetizan un amplio rango de compuestos que son tradicionalmente clasificados como metabolitos primarios y secundarios. Los metabolitos primarios son compuestos que tienen papeles esenciales asociados con la fotosíntesis, respiración, crecimiento y desarrollo; mientras que los metabolitos secundarios son compuestos presentes en células especializadas que no son directamente esenciales para el metabolismo fotosintético o respiratorio básico, pero se piensa que son requeridos para la supervivencia de la planta en el ambiente (Cheynier y col 2013). Dentro de estos últimos existen muchos compuestos bioactivos o fitoquímicos, los cuales aunque no son nutritivos desempeñan funciones metabólicas que pueden ofrecer beneficios significativos a la salud a largo plazo (Aguilera y col 2011; Aguilar-Raymundo y Vélez-Ruiz 2013). Prueba de ello es que el garbanzo ha sido utilizado en la medicina tradicional en India para enfermedades como fiebre, bronquitis, para desordenes de la piel y la sangre, como laxante, etc. (Tiwari y col 2013).

Los granos de leguminosas contienen una gran cantidad de compuestos bioactivos, tal es el caso del garbanzo en el cual hay compuestos fenólicos, carotenoides, tocoferoles, alcaloides, saponinas, taninos, esteroides, entre otros (Rochfort y Panozzo 2007; Jukanti y col 2012). Algunos de estos compuestos habían sido considerados como anti-nutrientes debido a su efecto en la calidad de

la dieta (Campos-Vega y col 2010), pero la información generada en los últimos años sugiere que la mayoría de ellos pueden ser benéficos para la salud del consumidor si se utilizan adecuadamente, ayudando en la prevención de enfermedades (Xu y Chang 2009).

El ácido fítico es uno de los compuestos bioactivos presentes en garbanzo, este había sido considerado como un anti-nutriente debido a su capacidad de atrapar metales e impedir que sean absorbidos, pero también es considerado un agente anti-cancerígeno y se ha sugerido como el responsable de la relación entre las dietas altas en fibra (ricas en ácido fítico) y la baja incidencia de algunos tipos de cáncer (Campos-Vega y col 2010). En el caso de las saponinas, se ha reportado que el garbanzo tiene un gran contenido de estos compuestos (25-56 mg/g), los cuales tienen varios beneficios a la salud debido a que forman complejos que interactúan con los ácidos biliares y el colesterol, reduciendo el colesterol en plasma y el riesgo de enfermedades cardíacas, además de tener actividad anti-cancerígena, anti-hiperglicémica y estimuladora del sistema inmune, protegiendo contra infecciones causadas por bacterias, hongos y virus (Rochfort y Panozzo 2007; Wood y Grusak 2007; Campos-Vega y col 2010; Jukanti col 2012). Los fitoesteroles están involucrados en la reducción de los niveles de lipoproteína de baja densidad (LDL) en sangre al inhibir la absorción de colesterol debido a la similitud de sus estructuras (Jukanti y col 2012). Con respecto a los tocoferoles, se han reportados contenidos de 8.7 a 11.3 mg/100 g de semilla siendo el más abundante el γ -tocoferol seguido por el α -tocoferol y δ -tocoferol (6.44-8.6, 1.76-2.11, 0.47-0.6 mg/100 g, respectivamente) (Boschin y Arnoldi 2011). Los tocoferoles son los antioxidantes más importantes de la fase lipídica

(Kalogeropoulos y col 2010), ya que poseen niveles importantes del principal compuesto con actividad de vitamina E (α -tocoferol) y diversos estudios muestran que participa en la detoxificación de dióxido de nitrógeno y sus especies reactivas, además de proteger contra enfermedades cardíacas (Boschin y Arnoldi 2011).

En cuanto a los carotenoides, los cuales son pigmentos metabolizados por el ser humano para producir vitamina A, se sabe que ayudan en la prevención de la deterioración macular, protegen contra el daño por luz ultravioleta y distintas formas de cáncer y tienen actividad antioxidante (Ashokkumar y col 2014, 2015). Los carotenoides importantes presentes en garbanzo incluyen β -caroteno, luteína, zeaxantina, β -criptoxantina, licopeno y α -caroteno (Jukanti y col 2012). En un estudio realizado por Ashokkumar y col (2015) con 121 accesiones de garbanzo, observaron que las accesiones tipo desi presentaron en promedio una mayor concentración de carotenoides totales (18.9 mg/g) que las tipo kabuli (13.4 mg/g). En lo referente a la concentración media de violaxantina, luteína, zeaxantina, β -criptoxantina y β -caroteno, los valores encontrados fueron más altos en los garbanzos tipo desi que en los kabuli. Otros compuestos fitoquímicos muy importantes en garbanzo son los compuestos fenólicos por lo que se describirán con mayor detalle en la siguiente sección.

C COMPUESTOS FENÓLICOS

1 Estructura y biosíntesis

Los compuestos fenólicos son considerados uno de los principales grupos de fitoquímicos y se caracterizan por tener al menos un anillo aromático con uno o

más grupos hidroxilo. Quideau y col (2011) señalaron que el término “fenólicos de plantas” debe ser estrictamente usado para referirse a metabolitos secundarios naturales derivados biogenéticamente de la ruta del shikimato/fenilpropanoides, la cual provee fenilpropanoides directamente (Figura 4), o mediante la ruta del policétido acetato/malonato, la cual produce fenoles simples, o bien de ambas rutas.

Los fenólicos han sido categorizados en varias clases con base en la estructura de su esqueleto: fenoles simples, benzoquinonas, ácidos fenólicos, aldehídos), C_6-C_2 (acetofenonas, ácidos fenilacéticos), C_6-C_3 (ácidos hidroxicinámicos, cumarinas, fenilpropanos y cromonas), C_6-C_4 (naftoquinonas), $C_6-C_1-C_6$ (xantonas), $C_6-C_2-C_6$ (estilbenos, antraquinonas), $C_6-C_3-C_6$ (flavonoides, isoflavonoides, neoflavonoides), $(C_6-C_3-C_6)_{2,3}$ (bi-, tri-, flavonoides, dímeros y trímeros de proantocianidinas), $(C_6-C_3)_2$ (lignanós, neolignanós), $(C_6-C_3)_n$ (lignanós), $(C_6)_n$ (Catecol, melaninas, florotaninos), $(C_6-C_3-C_6)_n$ (taninos condensados). Los fenólicos también pueden ser clasificados en dos grupos: flavonoides y no flavonoides (ácidos fenólicos) (Crozier y col 2006).

La generación de ácido fenólicos ocurre por medio de la aminación reductiva del ácido fenilpiruvato para formar el aminoácido fenilalanina, el cual puede sufrir una desaminación e hidroxilación mediada por el citocromo P450 para tener tirosina o ácido cinámico y sus análogos hidroxilados. La pérdida de carbonos de la cadena lateral es una ruta alternativa para la formación de ácido protocatecuico y gálico. La hidroxilación del precursor del ácido cinámico usualmente ocurre en la posición *para*- seguido por una hidroxilación secuencial en cada una de las

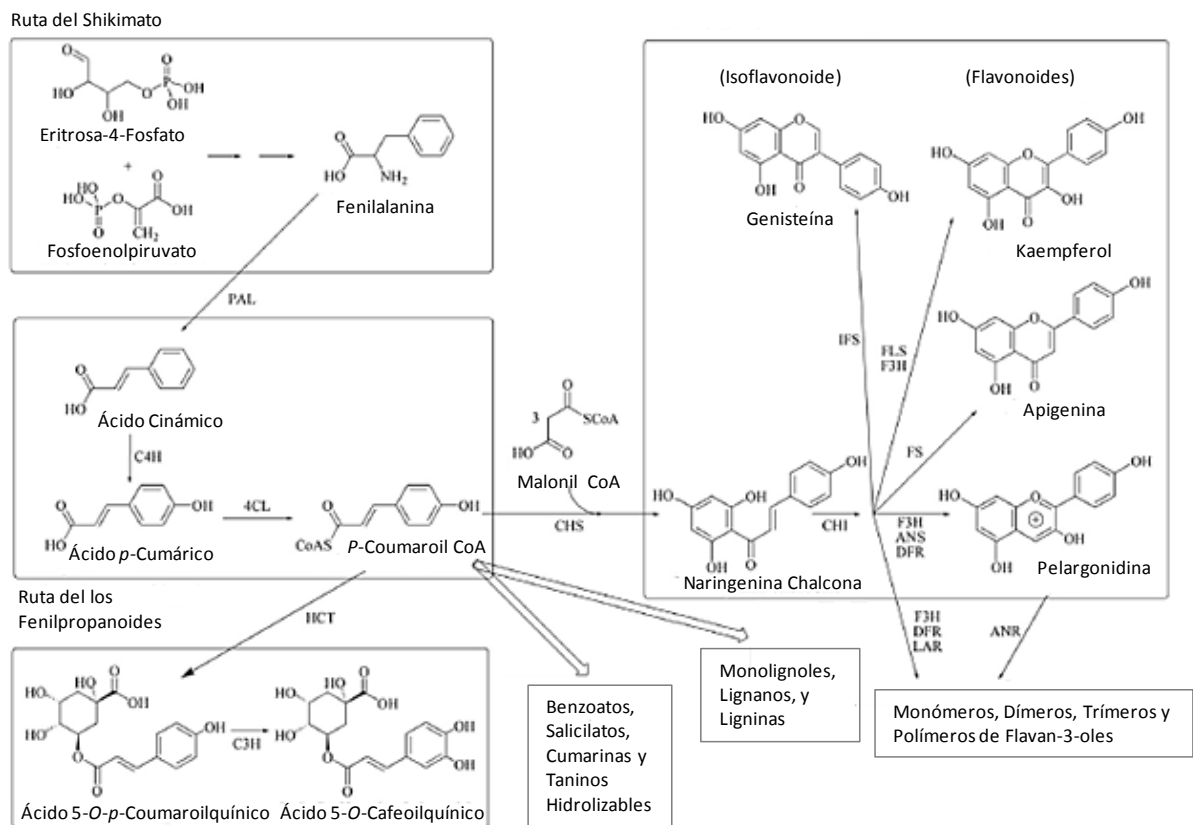


Figura 4. Esquema de las principales etapas de la ruta de biosíntesis de (poli) fenoles. PAL, fenilalanina amonio-liasa; C4H, cinamato-4-hidroxilasa; 4CL, 4-coumaroyl:CoA-ligasa; HCT, hidroxicinamoil transferasa; C3H, *p*-cumarato-3-hidroxilasa; CHS, chalcona sintasa; CHI, chalcona isomerasa; ANS, sintasa de antocianidina; DHFR, dihidroflavonol reductasa; FS, flavona sintasa; FLS, flavonoles sintasa; F3H, flavanona 3-hidroxilasa; IFS, isoflavona sintasa; ANR, antocianina reductasa; LAR, leucoantocianina reductasa.

Fuente: Cheynier y col (2013)

posiciones *meta*-. Variaciones entre las especies gobiernan el grado de hidroxilación y metilación (Morton y col 2000).

Los flavonoides se definen por su esqueleto básico (Figura 5), que consiste en dos anillos aromáticos con seis átomos de carbono (anillo A y B) interconectados por un heterociclo de tres átomos de carbono (anillo C), que resulta de la unión de una molécula de *p*-cumaroil-CoA y tres moléculas de malonil-CoA. De acuerdo con las modificaciones del anillo C central, los flavonoides se dividen en diferentes clases estructurales como flavanonas, flavonas, isoflavonas, flavonoles, flavanoles y antocianinas (Bovy y col 2007). La mayoría de los compuestos flavonoides son acumulados como glicósidos, estos pueden ser unidos por medio de un enlace en el oxígeno o carbono. Su clasificación se basa en el número de posiciones en el flavonoide, el nivel de glicosilación, el número y los tipos de azúcares involucrados en la glicosilación (Ghasemzageh y Ghasemzageh 2011). El sitio de glicosilación preferido en flavonoides es en la posición 3 y en menor frecuencia en la posición 7, siendo glucosa el residuo de azúcar más común, pero también se pueden encontrar otros azúcares como galactosa, ramnosa y xilosa (Rice-Evans y col 1996).

Los principales compuestos no flavonoides de importancia dietética son los ácidos fenólicos C₆-C₁, sobretudo el ácido gálico, que es precursor de los taninos hidrolizables, los hidroxicinamatos C₆-C₃ y sus derivados conjugados, así como los estilbenos C₆-C₂-C₆ (Crozier y col 2006).

El garbanzo contiene una cantidad significativa de isoflavonas, en forma de agliconas o como diferentes tipos de glucósidos conjugados. Además, esta

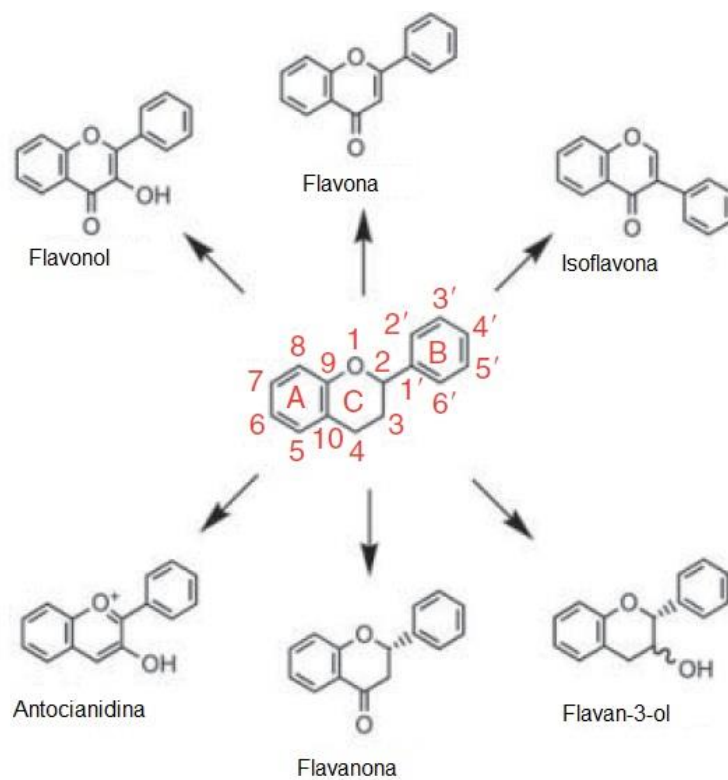


Figura 5. Estructuras genéricas de los principales flavonoides.

Fuente: Crozier y col (2006).

leguminosa posee flavonoides como quercetina, kaempferol y miricetina y ácidos fenólicos como ácido hidroxibenzoico e hidroxicinámico. Estos metabolitos secundarios poseen actividades antioxidantes, antiradicales y de poder reductor (Amarowick y col 2009), las cuales podrían explicar algunos de los efectos biológicos de dietas ricas en garbanzo. Dueñas y col (2006) evaluaron el perfil de compuestos fenólicos en testa y cotiledón de lenteja y chícharo oscuro, encontrando compuestos del tipo flavonoide, flavonas, flavanoles, proantocianidinas y ácidos fenólicos. Estos compuestos se pudieron identificar tanto en testa, como en cotiledón de chícharo. Por otro lado, en la testa de lenteja se pudieron identificar principalmente compuestos del tipo flavonoide, flavanoles, flavonas y proantocianidinas, mientras que en cotiledón se encontraron ácidos fenólicos y catequina.

2 Actividad biológica

Los principales compuestos fenólicos presentes en leguminosas son los flavonoides, ácidos fenólicos y procianidinas (Zhao y col 2014). Se ha reportado que estos poseen múltiples actividades biológicas que proveen beneficios a la salud, como son su actividad antioxidante, apoptótica, anti-envejecimiento, anti-diabética, anti-inflamatoria, anti-carcinogénica, vasolidatadora, protección vascular, anti-bacterial, efectos estrogenicos, entre otras (Rice-Evans y col 1996; Segev y col 2011). Se cree que los fenólicos trabajan sinérgicamente para promover dichas actividades por medio de sus propiedades antioxidantes y su

capacidad de inactivar y modular la actividad de varias enzimas como α -amilasa, α -glucosidasa y lipasa (Sreerama y col 2012; Mojica y col 2015; Zhang y col 2015).

Mojica y col (2015) observaron que los compuestos fenólicos tienen un alto potencial para inhibir enzimas relacionadas con el metabolismo de carbohidratos y reducir la disponibilidad de α -amilasa y α -glucosidasa, por lo que pudieran contribuir a mejorar las complicaciones en la diabetes tipo 2. La inhibición de estas enzimas tiene como resultado una reducción de la absorción de glucosa y disminución de la hiperglucemia postprandial, mientras que la inhibición de la enzima lipasa suprime y retrasa la digestión y absorción de triglicéridos, lo cual es clave en el control de hiperglicemia y obesidad (Zhang y col 2015).

Las isoflavonas son una clase de fitoestrogenos, las cuales han recibido una considerable atención debido a su potencial uso terapéutico. Estudios realizados en décadas recientes han mostrado que los fitoestrogenos de isoflavonas tienen efectos benéficos en la pérdida de hueso, crecimiento de vasos sanguíneos, algunos tipos de cáncer, la enfermedad de Alzheimer (Ademiluyi y Oboh 2013). Las isoflavonas extraídas de garbanzo, tanto de semilla como de germinado, se ha reportado que tienen un efecto antiproliferativo en células de cáncer de pecho, causando su apoptosis y suprimen la diferenciación de adipocitos, la acumulación de lípidos y estimulan la absorción de glucosa por medio de la regulación de la expresión de genes, mejorando así la secreción y actividad de la insulina, lo cual promueve una acción anti-diabética (Chen y col 2015; Gao y col 2015).

Adebamowo y col (2005) encontraron una asociación inversa entre el consumo de frijoles y lentejas, alimentos ricos en flavonoles, y el riesgo de contraer cáncer

de pecho; estos compuestos hipotéticamente reducen el riesgo de cáncer por medio de sus efectos en distintas rutas bioquímicas involucradas en carcinogénesis.

Diversos ensayos *in vivo* han demostrado que las proantocianidinas, también conocidas como taninos condensados, son compuestos biológicos activos con propiedades antiinflamatorias, antivirales, antibacteriana y antioxidantes (Sreerama y col 2012).

3 Compuestos fenólicos identificados en garbanzo

En la literatura se han reportado una gran variedad de compuestos fenólicos presentes en garbanzo (Cuadro 4). Xiao y col 2014 caracterizaron el perfil de compuestos fenólicos en garbanzo por medio del uso de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y entre los compuestos identificados destacaron los ácidos shikímico, sirínico y clorogénico y el flavonoide luteolina. Fratianni y col (2014) analizaron el perfil de compuestos fenólicos de dos cultivares de garbanzo, Sassano y Calsevita, observando la presencia de ácido gálico, clorogénico, cafeico, cumárico, ferúlico, catequina, epicatequina, rutina, luteolina y quercetina, siendo catequina el compuesto más abundante en ambos materiales. Por otro lado, Magalhães y col (2017) analizaron el perfil de compuestos fenólicos de seis genotipos de garbanzo (5 kabuli y 1 desi), encontrando en todos ácido *p*-hidroxibenzoico y ácido genístico, pero el ácido sirínico solo en el tipo desi. Otra diferencia que observaron fue la presencia en el genotipo desi de flavonoides

Cuadro 4. Compuestos fenólicos identificados en garbanzo.

Grupo/Clase	Compuesto	Concentración	Referencias
	Fenólicos Totales	1.5-6.8 mg EC/g (desi); 0.5-0.6 EC/g (kabuli)	Segev y col (2010)
Ác. fenólicos		0.5-1.5 mg EAG/g (desi)	Heiras-Palazuelos y col (2013)
	Ácido shikímico	89.92 µg/g	Xiao y col (2014)
	Ácido clorogénico	4.62 -208.7 µg/g	Sreerama y col (2010); Fратиanni y col (2014); Xiao y col (2014)
	Ácido sirínigico	62.6 - 1947 µg/g	Sreerama y col (2010); Hithamani y Srinivasan (2014); Xiao y col (2014)
	Ácido <i>p</i> - coumárico	0.43 - 161.3 µg/g	Sreerama y col (2010); Fратиanni y col (2014); Xiao y col (2014)
	Ácido ferúlico	0.9 - 262.5 µg/g	Sreerama y col (2010); Fратиanni y col (2014); Hithamani y Srinivasan (2014); Xiao y col (2014)
	Ácido gálico	5.42 - 40.2 µg/g	Sreerama y col (2010); Fратиanni y col (2014); Hithamani y Srinivasan (2014)
	Ácido hidroxibenzoico	10.5 - 57 µg/g	Sreerama y col (2010); Hithamani y Srinivasan (2014)
	Ácido <i>p</i> - hidroxibenzoico	6.01 - 13.39 µg/g	Aguilera y col (2011)
	Ácido dihidroxibenzoico	26 µg/g	Hithamani y Srinivasan (2014)
	Ácido vanílico	80.8 - 82.3 µg/g	Sreerama y col (2010); Hithamani y Srinivasan (2014)
	Ácido cafeico	51.8 µg/g	Sreerama y col (2010)
	Ácido protocatecuico	117.9 - 358.9 µg/g	Sreerama y col (2010); Hithamani y Srinivasan (2014)
	Ácido sinápico	7.81 - 33.2 µg/g	Hithamani y Srinivasan (2014); Sreerama y col (2010)

Cuadro 4. Continuación.

Isoflavonas			
	Biocanina A	19 - 846 µg/kg, bh 838 - 3080 g/100g	Wu y col (2012); Konar y col (2012); Mazur y col (1998)
	Biocanina A glucósida	1016 µg/kg, bh	Konar y col (2012)
	Genisteína	3.52 - 4.2 µg/g	Xiao y col (2014)
	Genisteína Hexósida	13.26 µg/g	Aguilera y col (2011)
Flavonoles			
	Rutina	0.54 - 18 µg/g	Aguilera y col (2011); Xiao y col (2014)
	Quercetina	0.37 - 160.61 µg/g	Xu y col (2009); Fratianni y col (2014)
	Quercetina hexósida	0.71 µg/g	Aguilera y col (2011)
	Kaempferol	18.11 -133.8 µg/g	Xu y col (2009); Sreerama y col (2010)
	Kaempferol 3-O-rutinosido	0.60 µg/g	Aguilera y col (2011)
	Miricetina	32.09 - 44 .3 µg/g	Xu y col (2009); Sreerama y col (2010)
Flavanoles			
	Catequina	147.49 - 1507.6 µg/g	Xu y col (2009); Fratianni y col (2014)
	Epicatequina	1.23 - 145.5 µg/g	Xu y col (2009); Fratianni y col (2014)
	Epigallocatequina	23.95 µg/g	Xu y col (2009)
	Galato de epicatequina	16.79 µg/g	Xu y col (2009)
Flavonas			
	Luteolina	0.55 - 132 µg/g	Fratianni y col (2014); Hithamani y Srinivasan (2014); Xiao y col (2014);

EC: equivalentes de catequina. EAG: Equivalentes de ácido gálico. bh: base húmeda.

glicosilados de luteolina, miricetina y quercetina, mientras que en los de tipo kabuli no detectaron ningún flavonoide. Parmar y col (2016) analizaron dos variedades de garbanzo (PBG 5 y BG 1053) y en ambos detectaron la presencia de ácido gálico, protocatecuico, vanílico, ferúlico y sinápico, pero solamente en la variedad PBG 5 detectaron ácido clorogénico y *p*-cumárico, mientras que solo en BG 1053 encontraron catequina.

Mekky y col (2015) caracterizaron un total de 140 compuestos en siete cultivares de garbanzo tipo desi de Egipto, entre los cuales 22 compuestos fueron confirmados con estándares y 88 fueron reportados por primera vez en garbanzo. Los compuestos fueron clasificados como ácidos fenólicos (ácidos hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos) y flavonoides. Los ácidos hidroxibenzoicos fueron la principal subclase en los siete cultivares estudiados, entre ellos los ácidos gálico, vanílico y *p*-hidroxibenzoico confirmados con estándares, así como otros identificados por espectrometría de masas como derivados de ácidos mono-, di- y tri-hidroxibenzoico, *O*-metilados y/o conjugados con azúcares y ácido malónico. También observaron 13 ácidos hidroxicinámicos que incluyeron ácidos *p*-cumárico, ferúlico y sinápico, así como algunos derivados glucósidicos. En cuanto a los favonoides, los flavonoles fueron la principal subclase con un total de 29 compuestos, de los cuales kaempferol, kaempferol 3-*O*- β -D-glucopiranosido, kaempferol 3-*O*-rutinosido, quercetina 3-*O*- β -D-glucopiranosido y rutina fueron confirmados con estándares, y otros derivados de kaempferol y quercetina, como la isorhamnetina y glucósidos y éteres de miricetina-*O*-metil también fueron detectados. En la subclase de los isoflavonoides detectaron 12 isoflavonas y 2 isoflavononas, tales como genisteina, biocanina A, orobol y dos isómeros de

dalpanina. Otros flavonoides identificados fueron naringenina, naringenina-7-O- β -D-glucopiranosido, (-)-epicatequina, (+)-catequina, aromadendrina, apigenina y sus derivados.

Los compuestos fenólicos no están distribuidos de manera equitativa en el grano de garbanzo. Sreerama y col (2010) identificaron en dicha leguminosa, 3 flavonoles (quercetina, kaempferol y miricetina), 2 isoflavonas (daidzeína y genisteína), 5 derivados de ácido benzoico (ácido gálico, ácido protocatecuico, *p*-hidroxibenzoico, vanillico y sirínico) y 5 derivados de ácido cinámico (ácido cafeico, clorogénico, ferúlico, sinápico y *p*-cumárico). Quercetina, kaempferol y miricetina se encontraron distribuidas en toda la semilla pero su contenido fue mayor en testa, mientras que los ácidos cinámicos fueron los principales ácidos fenólicos en el cotiledón. También identificaron las antocianinas cianidina, delphinidina y petunidina en testa, pero no se encontraron en el cotiledón.

D ESTRÉS OXIDATIVO

El estrés oxidativo es el resultado de alteraciones en el balance prooxidativo/antioxidativo celular (Blasiak y col 2014) y bajo esta condición los niveles celulares de radicales libres sobrepasan las capacidades antioxidantes de la célula (Yan 2014). Un radical libre existe con uno o más electrones desapareados en los orbitales atómicos o moleculares y en sistemas biológicos los principales son las especies reactivas de oxígeno (ROS) (Lee y col 2004), dentro de los cuales se incluyen los radicales hidroxilo ($\text{OH}^\cdot$), superóxido ($\text{O}_2^\cdot$), perhidróxido ($\text{HO}^\cdot$), así como especies no radicales derivadas del oxígeno como

peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y oxígeno singulete ($^1\text{O}_2$) (Circu y Aw 2010). Otras especies reactivas son las especies de nitrógeno como el óxido nítrico ($\text{NO}^\cdot$), dióxido nítrico ($\text{NO}_2^\cdot$) y peroxinitrito ($\text{OONO}^\cdot$) (Lee y col 2004). Estas especies son generalmente inestables, altamente reactivas y tóxicas causando daño a proteínas, lípidos, carbohidratos y al ácido desoxirribonucleico (ADN), dando lugar a la muerte celular.

La mitocondria es considerada la principal fuente de ROS y radicales libres, debido a que consume más del 90% del oxígeno en organismos aerobios (Lee y col 2004), del cual 1-2% es desviado para la formación de ROS principalmente al nivel del complejo I y III de la cadena de respiración. El $\text{O}_2^\cdot$ generado por la mitocondria es convertido a H_2O_2 por la enzima superóxido dismutasa y después en agua por las enzimas glutatión peroxidasa y catalasa, pero el H_2O_2 también puede descomponerse para generar el radical $\text{OH}^\cdot$ el cual es un fuerte oxidante y altamente reactivo que puede extraer un átomo de hidrogeno de cualquier enlace carbono-hidrogeno y oxidar el compuesto causando daños significativo en proteínas, lípidos y ADN (Lee y col 2004; Circu y Aw 2010; Faria y Persaud 2017).

Cabe señalar que fuentes ambientales como la irradiación ultravioleta (UV), irradiación ionizante y los contaminantes también producen ROS (Halliwell 1997), las cuales también contribuyen al estrés oxidativo.

1 Efectos del estrés oxidativo sobre la salud

El estrés oxidativo es altamente dañino para la salud ya que causa modificaciones en lípidos, proteínas y ADN, además de activar factores de

transcripción que provocan inflamación, fibrosis e hipertrofia (Faria y Persaud 2017). Se considera que el estrés oxidativo está involucrado en la iniciación y desarrollo de varias condiciones y enfermedades, como inflamación, cáncer, arterioesclerosis, envejecimiento, apoplejía, asma, artritis, dermatitis, daño a la retina, hepatitis, enfermedades cardiovasculares, entre otras (Lee y col 2004; Ghasemzadeh y Ghasemzadeh 2011).

Como principal generador de ROS, la mitocondria es blanco de una alta exposición a estas especies con consecuencias como daño oxidativo de su ADN, lo cual se ha asociado con la muerte celular o apoptosis (Circu y Aw 2010). Estos daños causados por las ROS provocan fallas en la síntesis de proteínas en órganos importantes como las células β en el páncreas, lo cual disminuye la secreción de insulina, mientras que la glucosa en sangre aumenta y surge la enfermedad de la diabetes (Wang y col 2016a).

La enfermedad cardiovascular diabética abarca una variedad de afecciones cardiovasculares como miocardiopatía diabética, enfermedad coronaria e insuficiencia cardíaca congestiva y se cree que el estrés oxidativo está involucrado en la patogénesis de todas estas afecciones (Faria y Persaud 2017).

El estrés oxidativo también se ha involucrado en las etapas iniciales y desarrollo de enfermedades crónicas, por lo que su prevención constituye un enfoque efectivo para evitar estos padecimientos. En este sentido, los compuestos fenólicos han ganado interés debido a sus propiedades antioxidantes (Martin y Ramos 2016)

2 Mecanismos de defensa contra el estrés oxidativo

La célula cuenta con sistemas antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos para combatir el estrés oxidativo. Dentro del sistema enzimático se pueden mencionar las enzimas superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa, las cuales se encargan de mantener el balance entre la generación de ROS y su degradación (Lee y col 2004; Faria y Persaud 2017). Por otro lado, en el sistema no enzimático podemos encontrar sustancias liposolubles como la vitamina E, carotenoides y tocoferoles, y las hidrosolubles como la vitamina C y los compuestos fenólicos, los cuales ayudan a regular el balance de ROS como antioxidantes (Lee y col 2004).

Diversos estudios señalan que los compuestos antioxidantes reaccionan con radicales libres y les ceden un electrón oxidándose y transformándose en radicales libres débiles, con escasos o nulos efectos tóxicos. La actividad de un antioxidante está determinada por su capacidad para donar hidrógenos y/o electrones, el destino del radical derivado del antioxidante, su reactividad con otros antioxidantes y su potencial para quelar metales de transición, por lo que los polifenoles poseen estructuras químicas ideales para eliminar radicales libres (Rice-Evans y col 1997). Por ello se ha sugerido que la provisión de antioxidantes exógenos puede ser terapéuticamente benéfica y se han realizado algunos estudios en este sentido (Faria y Persaud 2017).

Las propiedades antioxidantes de los fenólicos y flavonoides están mediadas por los siguientes mecanismos: 1) eliminación de ROS; 2) supresión de la formación de ROS inhibiendo algunas enzimas o quelando metales que participan

en la producción de ROS; 3) Regulación o protección del sistema antioxidante (Cotelle 2001).

3 Antioxidantes en los alimentos

El consumo de frutas y vegetales que contienen altas cantidades de antioxidantes ha sido asociado con un buen balance entre radicales libres y antioxidantes, lo que ayuda a disminuir el estrés oxidativo del cuerpo y reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares y cáncer (Lee y col 2004). En los alimentos existen diversos compuestos fitoquímicos que presentan actividad antioxidante, como el fitoesterol y los tocoferoles, los cuales ofrece protección contra la oxidación de LDL, por lo que son considerados como componentes importantes de la dieta para mantener una buena salud cardíaca y son considerados como los antioxidantes lipídicos más efectivos, ya que actúan como secuestradores de radicales peróxido (Kalogeropoulos y col 2010).

Otros antioxidantes de gran importancia son los compuestos fenólicos. Knekt y col (1997) observaron una relación inversa entre el consumo de flavonoides y la incidencia de cáncer de pulmón, efecto que fue atribuido principalmente a la quercetina. La quercetina es uno de los flavonoides que se ha demostrado posee una excelente eficiencia en la eliminación de radicales libres (Liu y col 2010).

Las frutas, vegetales, especias, hierbas, y bebidas como té y vino son alimentos típicos que contienen diversos nutraceuticos antioxidativos. Frutas como arándanos, fresas y moras contienen grandes cantidades de compuestos fenólicos como ácidos benzoicos hidroxilados, ácido cinámico y flavonoides (Lee y col

2004). En leguminosas también se encuentran compuestos fenólicos y flavonoides que son considerados como antioxidantes naturales (Dueñas y col 2004). Cabe mencionar que los antioxidantes pueden actuar diferente con distintos radicales u oxidantes debido a los múltiples mecanismos involucrados (Marathe y col 2011), por lo que es importante utilizar diferentes métodos para evaluar su actividad.

Dueñas y col (2006) analizaron la actividad antioxidante en testa y cotiledón de dos variedades de las leguminosas lenteja y chícharo oscuro, encontrando una mayor actividad antioxidante en testa, la cual relacionaron con el contenido y tipos de compuestos fenólicos (flavononas, flavanoles y proantocianidinas) presentes en ella. Otros investigadores han encontrado una correlación significativa entre los taninos condensados y la actividad antioxidante en frijol (Ranilla y col 2007) debido a que son capaces de eliminar el radical DPPH *in vivo*.

Aguilera y col (2011) reportaron valores de capacidad antioxidante de 27.8 y 16.4 μmol Equivalentes de Trolox (ET)/g en las variedades de garbanzo Castellano y Sinaloa por el método de ORAC (Capacidad de Absorción de Radicales de Oxígeno), los cuales relacionaron con la presencia de compuestos fenólicos como ácidos hidroxibenzoicos, flavonas, flavanonas e isoflavonas. Heiras-Palazuelos y col (2013) reportaron valores de actividad antioxidante (ORAC) de 50.1 a 57.6 μmol ET/g en 5 genotipos de garbanzo tipo desi y de 44.4 μmol ET/g en un genotipo kabuli. Por otro lado, Marathe y col (2011) reportaron rangos de actividad antioxidante para garbanzo de 4.1-7.4 μmol ET/g por el método de Ensayo del poder de reducción/antioxidante férrico (FRAP) y de 4.1-6.6

$\mu\text{mol ET/g}$ por método de decoloración del radical ABTS [2, 2'-Azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico)].

Los compuestos fenólicos son considerados compuestos bioactivos naturales de las plantas que aportan beneficios a la salud. En garbanzo, se ha reportado que el contenido de fenólicos totales presenta una correlación positiva con la actividad antioxidante ($r=0.942$; $p=0.005$) y antimutagénica ($r=0.826$; $p=0.043$) (Garzón-Tiznado y col 2013), lo que sugiere que estos compuestos son los principales responsables de ambas actividades.

IV JUSTIFICACIÓN

El garbanzo es una de las leguminosas de mayor importancia en la nutrición humana ya que representa una buena fuente de proteínas, carbohidratos, fibra dietaria, ácidos grasos insaturados y compuestos fitoquímicos, entre los que destacan los fenólicos. Sin embargo, el cultivo de garbanzo presenta diversos problemas de tipo biótico y abiótico que afectan su rendimiento y calidad, por lo que la mayoría de los estudios se han enfocado en atender principalmente características agronómicas desarrollando variedades con resistencia a enfermedades y mayores rendimientos mediante esquemas de mejoramiento tradicional. En Sinaloa, el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) se ha encargado de la introducción y formación de variedades de garbanzo con calidad de exportación, dejando de lado características de calidad nutrimental y nutracéutica importantes del grano, las cuales deberían tomarse en cuenta con la finalidad de darle un valor agregado y expandir su mercado. Dentro de estas características se encuentra el contenido de fenólicos, compuestos bioactivos con capacidad antioxidante que protegen al organismo contra el daño causado por agentes oxidantes. En este sentido, existen pocos reportes en los que se identifiquen los compuestos fenólicos presentes en los distintos genotipos de garbanzo y se evalúe su actividad antioxidante individual, por lo que en el presente trabajo se propuso realizar la caracterización del perfil de compuestos fenólicos y su contribución a la actividad antioxidante de genotipos de garbanzo tipo kabuli del programa de mejoramiento de INIFAP y otros tipo desi de interés alimentario.

V OBJETIVOS

A OBJETIVO GENERAL

Identificar compuestos fenólicos asociados con la actividad antioxidante de genotipos de garbanzo (*Cicer arietinum* L.).

B OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Evaluar la actividad antioxidante *in vitro* de extractos metanólicos de 18 genotipos de garbanzo de interés alimentario.
2. Caracterizar el perfil de compuestos fenólicos de extractos metanólicos de los genotipos de garbanzo estudiados.
3. Establecer asociaciones entre los compuestos fenólicos y la actividad antioxidante de los genotipos de garbanzo.

VI MATERIALES Y MÉTODOS

A MATERIALES

Se utilizaron 18 genotipos de garbanzo, nueve tipo desi provenientes del Banco Mundial de Germoplasma del Instituto Internacional de Investigación de Cultivos para Zonas Tropicales y Semiáridas (ICRISAT), y nueve tipo kabuli donados por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) (Cuadro 5). Estos materiales fueron cultivados bajo condiciones de riego en el Campo Experimental del Valle de Culiacán (CEVACU) del INIFAP durante la temporada 2015-2016. Se utilizó un diseño de bloques completamente aleatorio con tres replicas. El suelo fue fertilizado antes de sembrar (90 Kg/ha N, 44 Kg/ha P) y el promedio mínimo y máximo de temperatura fue de 13.6 ± 4.5 y 29.0 ± 3.2 °C, respectivamente.

B MÉTODOS

1 Obtención de harinas

Los granos de garbanzo fueron procesados con un molino mezclador de bolas modelo MM400 (Retsch, Haan, Alemania) y la harina se pasó por una malla #60 para obtener un tamaño de partícula homogéneo de 250 μm .

2 Preparación de extractos metanólicos

Se obtuvieron extractos metanólicos siguiendo la metodología de Sreerama y col (2010) con ligeras modificaciones. Se pesaron 0.75 g de harina y se mezclaron con

Cuadro 5. Genotipos de garbanzo (*Cicer arietinum* L.).

Genotipo	Color de grano	País
Colección ICRISAT		
ICC 6306	Negro	Rusia
ICC 4418	Negro	Irán
ICC 3761	Negro	Irán
ICC 3512	Café	Irán
ICC 5383	Café	India
ICC 13124	Café	India
ICC 14872	Café	India
ICC 5613	Verde	India
ICC 3421	Beige	Israel
Colección INIFAP		
Blanco Sinaloa 92	Beige	México
Jumbo 2010	Beige	México
Blanoro	Beige	México
Suprema 03	Beige	México
Progreso 95	Beige	México
Hoga 340	Beige	México
Hoga 021	Beige	México
Surutato 77	Beige	México
Santo Domingo 82	Beige	México

15 mL de metanol al 80 % (v/v), la mezcla fue homogenizada por 30 min en un agitador orbital y luego fue sonicada por 30 min. Al extracto sonicado se le realizó una hidrólisis ácida con 6 mL de HCl 2M. Posteriormente se sometió a calentamiento en baño María a 95 °C por 30 min. Transcurrido el tiempo se centrifugó a 3,214 g por 10 min. El sobrenadante se mezcló con 10 mL de hexano, se recuperó la fase acuosa y se mezcló con 10 mL de acetato de etilo. Se recuperó la fase de acetato de etilo y se llevó a sequedad en un rotavapor. El residuo seco se resuspendió en 300 mL de metanol y se pasó por un filtro de 0.45 µm (PVDF membrane HPLC certified, Pall, EUA). Los extractos fueron almacenados a -20 °C hasta su posterior análisis.

3 Actividad Antioxidante

a ABTS

La actividad antioxidante por el método de decoloración del radical ABTS [2, 2'-Azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico)], se determinó según lo descrito por Re y col (1999) con algunas modificaciones. El radical catiónico ABTS⁺ se produjo mezclando 5 mL de solución de ABTS 7 mM y 5 mL de solución de persulfato de potasio (K₂S₂O₈) 2.5 mM, seguido de almacenamiento en oscuridad a temperatura ambiente durante 16 h. Antes de su uso, esta solución fue diluida con un amortiguador de fosfatos (2.45 mM, pH 7.4) hasta tener una absorbancia de 0.70 ± 0.02 a 734 nm en un espectrofotómetro modelo BIOMATE 3S (Thermo Fisher Scientific, Madison WI). Se mezclaron 7.5 µL mL de la muestra y 292.5 µL de la solución del radical ABTS, se incubó por 10 min a temperatura ambiente en

oscuridad y se leyó la absorbancia a 655 nm en un lector de microplaca modelo 680 (BIORAD, Hercules CA). La disminución en el valor de la absorbancia fue medida a 734 nm después de 6 min. Se usó una solución patrón de Trolox para la preparación de la curva de calibración y la actividad antioxidante se expresó como micromoles equivalentes de Trolox ($\mu\text{mol ET}$) /100 g de harina de garbanzo.

b DPPH

La actividad antioxidante se evaluó mediante el radical libre estable 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) usando el método de Brand-Williams y col (1995) con algunas modificaciones. Se preparó una solución metanólica del radical DPPH a una concentración de 1 mg/mL. El ensayo se realizó en microplaca en la cual se mezclaron 20 μL del extracto (previamente diluido) y 180 μL del radical DPPH (150 μM). Como blanco se utilizó una mezcla de 20 μL de metanol y 180 μL de radical. La microplaca se dejó reposar a temperatura ambiente durante 30 min a 37 °C en oscuridad y posteriormente se leyó la absorbancia a 550 nm en un lector de microplaca modelo 680 (BIORAD, Hercules CA). Se construyó una curva de calibración de Trolox y los resultados fueron reportados como $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$.

c FRAP

La actividad antioxidante mediante el ensayo del poder de reducción/antioxidante férrico (FRAP) se determinó de acuerdo al procedimiento descrito por Benzie y Strain (1996). El reactivo FRAP se preparó con 10 mL de TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina) 10

mM en HCl 40 mM, 10 mL de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 20 mM y 100 mL de amortiguador de acetato de sodio 300 mM, pH 3.6. El reactivo FRAP se preparó el mismo día, el ensayo se realizó en microplaca en la cual se mezclaron 20 μL de muestra o metanol (blanco) y 280 μL de reactivo de FRAP. Las muestras y el blanco se incubaron a temperatura ambiente durante 30 min, seguido de la lectura de la absorbancia a 595 nm en un lector de microplaca modelo 680 (BIORAD, Hercules CA). Se construyó una curva de calibración de Trolox y los resultados fueron reportados como $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$.

4 Contenido de fenólicos totales

Se determinó mediante el método colorimétrico descrito por Singleton y col (1999) con modificaciones. Primeramente se oxidaron 20 μL del extracto metanólico con 220 μL del reactivo Folin-Ciocalteu. Luego de 3 min de reposo, se adicionaron 60 μL de una solución de carbonato de sodio al 7% (p/v) y se incubó por 90 min. Se midió la absorbancia a 750 nm utilizando un espectrofotómetro modelo BIOMATE 3S (Thermo Fisher Scientific, Madison WI). Para la cuantificación se preparó una curva utilizando ácido gálico como estándar. El contenido de fenólicos totales se reportó como miligramos equivalentes de ácido gálico (mg EAG) por 100 g de muestra en base seca (bs).

5 Perfil de compuestos fenólicos

a Separación e Identificación

Para determinar el perfil de compuestos fenólicos se analizaron 10 µL del extracto metanólico en un equipo de cromatografía líquida de ultra-alta resolución (UPLC) modelo ACCELA dotado con un detector de arreglo de diodos (DAD) (Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, EUA). La separación se realizó en una columna FORTIS C18 (50 x 2.1 mm) (Fortis Technologies LTD., Cheshire, Inglaterra). La fase móvil consistió de agua-ácido fórmico al 1 % (A) y acetonitrilo (B) con una velocidad de flujo de 0.2 mL/min; se utilizó un gradiente lineal variando de 0.5 % a 40 % de B en 40 min y finalmente la columna fue reequilibrada con 100 % de fase A durante 5 min. El tiempo total de corrida fue de 50 min. La detección se realizó a 280, 320 y 350 nm. La identificación de compuestos fenólicos en la muestra se realizó por comparación de los tiempos de retención y espectros UV de los picos cromatográficos de las muestras y estándares comerciales (ácido gálico, ácido p-hidroxibenzoico, ácido sirínico, catequina, miricetina, rutina, quercetina, genisteína, kaempferol e isoramnetina). Además se corroboró su identidad con un espectrómetro de masas LTQ-XL (Thermo Scientific, EUA) equipado con una fuente de ionización con electroasperjado (ESI) operando en modo positivo/negativo con voltaje y temperatura del capilar de 35 V y 300°C, respectivamente. El análisis de los datos se llevó a cabo con ayuda del software Xcalibur versión 2.2 (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, EUA) en modo de escaneo completo utilizando una relación masa/carga (m/z) de 110 hasta 2000. Este análisis permitió conocer el peso molecular y fragmentos generados de los compuestos analizados.

b Cuantificación

La cuantificación de los compuestos fenólicos de los extractos metanólicos se realizó por UPLC empleando curvas de calibración obtenidas a partir de la separación de concentraciones conocidas (50-400 $\mu\text{g/mL}$) de estándares comerciales de ácido gálico, ácido *p*-hidroxibenzoico, vainillina, ácido 2-hidroxicinámico, ácido protocatecuico, ácido sirínico, ácido *p*-cumarico y ácido ferúlico para los ácidos fenólicos y de miricetina, rutina, genisteína, catequina, quercetina, kaempferol e isoramnetina para los flavonoides.

6 Asociación de los compuestos fenólicos con la actividad antioxidante

Una vez obtenidos los perfiles de compuestos fenólicos se estableció su asociación con los datos de actividad antioxidante (ABTS, DPPH y FRAP) mediante un análisis de componentes principales (PCA). Finalmente, se evaluó la actividad antioxidante de los componentes químicos mayoritarios a la misma concentración que fueron encontrados en el extracto metanólico de un genotipo representativo (ICC 4418) para determinar su contribución a dicha actividad y también se evaluaron a concentraciones equimolares (50 μM) por los tres métodos (ABTS, DPPH, FRAP).

7 Análisis estadístico

El análisis de datos se realizó utilizando un diseño bifactorial con bloques completamente al azar empleando el programa STATGRAPHIC plus versión 5.1 (Statistical Graphics CorporationTM, Rockville, Maryland, EUA). Se utilizó la prueba de

Tukey con un nivel de significancia del 5 % para comparar las medias entre garbanzos del mismo tipo. Para la comparación entre los valores promedio de los genotipos de garbanzo desi y kabuli se realizó una prueba t. Las relaciones entre los genotipos de garbanzo se determinaron mediante un análisis de componentes principales (PCA) basándose en los datos de fenólicos y actividad antioxidante usando el programa STATA versión 11.1 (Stata Corp, College Station, Texas, USA).

VII RESULTADOS

A ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS METANÓLICOS DE GARBANZO

La actividad antioxidante fue evaluada mediante tres métodos (ABTS, DPPH y FRAP) ya que los compuestos fenólicos poseen distintos mecanismos para inactivar radicales. En cada uno de los métodos se observó que los garbanzos estudiados presentaron una amplia variabilidad en actividad antioxidante (Cuadro 6). Los valores promedio en los garbanzos tipo desi fueron hasta seis veces más altos que los observados en los genotipos kabuli, lo cual corresponde con estudios previos donde reportaron una mayor actividad antioxidante en garbanzos con granos pigmentados comparado con genotipos de granos blanco o crema (Marathe y col 2011; Segev y col 2010).

Los valores de actividad antioxidante obtenidos por ABTS en los garbanzos tipo kabuli variaron de 278.3 (Jumbo 2010) a 413.1 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ (Suprema 03), los cuales son superiores al valor reportado por Han y Baik (2008) en el garbanzo tipo kabuli cv. Dwelly (200 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$). La actividad antioxidante de los genotipos desi varió de 325.9 (ICC 3421) a 2417.5 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ (ICC 4418) (Cuadro 6). Marathe y col (2011) reportaron una actividad antioxidante por ABTS de 436 a 655 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ para tres garbanzos tipo desi de India, los cuales caen dentro del rango observado en el presente estudio para este tipo de garbanzo. El método de ABTS es generalmente utilizado para determinar la actividad antioxidante de moléculas que eliminan radicales por medio de la donación de hidrógenos (protones) y de antioxidantes de rompimiento de cadena (Leong y Shui 2002). Esto sugiere que

Cuadro 6. Actividad antioxidante de extractos metanólicos de genotipos de garbanzo.

Genotipo	ABTS ($\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$)	DPPH ($\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$)	FRAP ($\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$)
KABULI			
Bco. Sin. 92	$333.3 \pm 7.1^{\text{de}}$	$159.1 \pm 5.4^{\text{c}}$	$74.4 \pm 3.4^{\text{c}}$
Blanoro	$346.1 \pm 4.2^{\text{cd}}$	$93.2 \pm 4.2^{\text{e}}$	$80.7 \pm 3.0^{\text{c}}$
Hoga 021	$412.6 \pm 16.2^{\text{a}}$	$140.2 \pm 4.6^{\text{d}}$	$134.9 \pm 9.2^{\text{b}}$
Hoga 340	$390.5 \pm 15.6^{\text{ab}}$	$242.8 \pm 2.1^{\text{a}}$	$172.3 \pm 5.1^{\text{a}}$
Jumbo 2010	$278.3 \pm 1.1^{\text{f}}$	$73.2 \pm 1.4^{\text{f}}$	$45.9 \pm 2.1^{\text{d}}$
Suprema 03	$413.1 \pm 8.5^{\text{a}}$	$199.4 \pm 4.9^{\text{b}}$	$159.5 \pm 10.5^{\text{a}}$
Progreso 95	$366.3 \pm 7.3^{\text{bc}}$	$205.6 \pm 4.6^{\text{b}}$	$133.7 \pm 7.9^{\text{b}}$
Sto. Domingo 82	$325.4 \pm 2.2^{\text{de}}$	$38.8 \pm 2.9^{\text{g}}$	$48.5 \pm 3.7^{\text{d}}$
Surutato 77	$315.1 \pm 6.6^{\text{e}}$	$83.7 \pm 2.8^{\text{e}}$	$84.6 \pm 1.7^{\text{c}}$
Promedio	353.4^{b}	136.9^{b}	103.8^{b}
DESI			
ICC 3421	$325.9 \pm 7.6^{\text{f}}$	$51.8 \pm 2.7^{\text{i}}$	$40.7 \pm 0.9^{\text{g}}$
ICC 6306	$1928.7 \pm 105.1^{\text{b}}$	$1216.4 \pm 3.2^{\text{b}}$	$1082.7 \pm 10.9^{\text{b}}$
ICC 376	$1480.6 \pm 32.9^{\text{c}}$	$935.4 \pm 7.6^{\text{d}}$	$517.1 \pm 7.3^{\text{d}}$
ICC 4418	$2417.5 \pm 213.1^{\text{a}}$	$1650.3 \pm 25.0^{\text{a}}$	$1181.4 \pm 20.4^{\text{a}}$
ICC 3512	$1225.7 \pm 4.6^{\text{e}}$	$899.8 \pm 3.7^{\text{e}}$	$499.9 \pm 29.7^{\text{d}}$
ICC 5383	$1370.7 \pm 52.7^{\text{cd}}$	$569.5 \pm 12.4^{\text{g}}$	$244.9 \pm 10.4^{\text{e}}$
ICC 13124	$1210.2 \pm 19.1^{\text{e}}$	$332.9 \pm 14.4^{\text{h}}$	$92.5 \pm 5.7^{\text{f}}$
ICC 14872	$1297.5 \pm 43.1^{\text{cd}}$	$732.5 \pm 7.3^{\text{f}}$	$244.3 \pm 7.5^{\text{e}}$
ICC 5613	$1527.7 \pm 43.1^{\text{c}}$	$1162.7 \pm 4.2^{\text{c}}$	$618.8 \pm 13.9^{\text{c}}$
Promedio	1420.5^{a}	839.0^{a}	501.3^{a}

ET: Equivalentes de Trolox. Los resultados están expresados en base seca. Letras diferentes en una misma columna para el mismo tipo de garbanzo indican diferencias significativas ($P < 0.05$) entre las medias de acuerdo con la prueba de Tukey. Letras diferentes para los valores promedio de cada tipo indican diferencias significativas ($P < 0.05$) de acuerdo con una prueba t.

los compuestos presentes en los extractos de los genotipos de garbanzo son capaces de eliminar radicales libres por medio del mecanismo de donación de electrones/protones y son capaces de proteger matrices susceptibles a la degradación oxidativa causada por dichas especies reactivas (Zia-Ul-Haq y col 2008).

La actividad antioxidante por DPPH varió de 38.8 (Sto. Domingo 82) a 242.8 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ (Hoga 340) en los genotipos kabuli y de 51.8 (ICC 3421) a 1650.3 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ (ICC 4418) en los tipo desi. Han y Baik (2008) reportaron una actividad antioxidante (DPPH) para el garbanzo kabuli cv. Dwelly de 47 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$, valor que cae dentro del rango observado en este estudio para genotipos del mismo tipo. Por otro lado, Zia-Ul-Haq y col (2008) reportaron valores de DPPH de 105 a 124 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ para 4 garbanzos tipo desi de Paquistán, lo cuales son inferiores a los observados en este estudio para los tipo desi. Marathe y col (2011) reportaron una mayor actividad antioxidante por el método de DPPH en garbanzo tipo desi que en tipo kabuli, lo cual corresponde con los resultados obtenidos en este estudio, ya que con excepción del genotipo ICC 3421 todos los genotipos tipo desi presentaron una actividad antioxidante mayor que los tipo kabuli.

Con respecto al método de FRAP, la actividad antioxidante varió de 45.9 a 172.3 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ para los genotipos kabuli (Cuadro 6). Este rango de valores comprende los reportados por Segev y col (2010) en dos garbanzos del mismo tipo (80 y 100 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$). Los garbanzos tipo desi mostraron valores de 40.7 a 1181.4 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$, los cuales son similares a los reportados por Marathe y col

(2011) (536.3 a 739.1 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$) y por Segev y col (2010) (730 a 3110 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$) en genotipos de garbanzo tipo desi.

B CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE EXTRACTOS METANÓLICOS DE GARBANZO

1 Contenido de fenólicos totales

En el Cuadro 7 se muestra el contenido de fenólicos totales, donde se puede observar una amplia variabilidad entre los 18 genotipos de garbanzo estudiados. El contenido promedio de estos compuestos en los genotipos desi fue 4 veces mayor que el observado en los de tipo kabuli. Los valores de fenólicos totales variaron de 27.1 a 49.3 mg EAG/100 g en los garbanzos tipo kabuli, los cuales son similares a lo reportados por Wang y col (2016b) (34.4 mg EAG/100 g) en un garbanzo del mismo tipo. En los genotipos desi se observaron valores de 24.1 a 362.0 mg EAG/100 g, los cuales corresponden con los reportados por Heiras-Palazuelos y col (2013) (123-151 mg EAG/100 g) y por Mekky y col (2015) (71-129 mg EAG/100 g) en garbanzos tipo desi. Con excepción de ICC 3421, los genotipos desi presentaron un mayor contenido de fenólicos totales que los tipo kabuli, lo cual puede asociarse a una mayor presencia de estos compuestos en la testa de garbanzos de color oscuro (Magalhães y col 2017; Segev y col 2010), tal es el caso del genotipo ICC 4418 que presentó el mayor contenido de fenólicos totales, seguido de ICC 6306; ambos genotipos son de color negro, mientras que ICC 3421 es de color crema.

Cuadro 7. Contenido de fenólicos totales en los genotipos de garbanzo.

Genotipo		Fenólicos Totales (mg EAG/100 g)
KABULI		
	Bco. Sin. 92	37.9 ± 1.2^c
	Blanoro	30.7 ± 1.2^d
	Hoga 021	40.0 ± 1.3^c
	Hoga 340	49.3 ± 1.2^a
	Jumbo 2010	27.1 ± 1.3^d
	Suprema 03	47.7 ± 1.3^{ab}
	Progreso 95	44.2 ± 1.4^b
	Sto. Domingo 82	28.7 ± 1.1^d
	Surutato 77	38.3 ± 1.8^c
	Promedio	38.2^b
DESI		
	ICC 3421	24.1 ± 1.0^g
	ICC 3512	136.7 ± 7.4^d
	ICC 3761	173.4 ± 1.1^c
	ICC 4418	362.0 ± 8.9^a
	ICC 5383	100.2 ± 3.6^e
	ICC 5613	161.3 ± 3.2^c
	ICC 6306	311.9 ± 1.9^b
	ICC 13124	69.9 ± 1.6^f
	ICC 14872	102.1 ± 4.9^e
	Promedio	160.2^a

Los resultados están expresados en base seca. Letras diferentes en una misma columna para el mismo tipo de garbanzo indican diferencias significativas ($P < 0.05$) entre las medias de acuerdo con la prueba de Tukey. Letras diferentes para los valores promedio de cada tipo indican diferencias significativas ($P < 0.05$) de acuerdo con una prueba *t*.

Además, los genotipos desi presentan un mayor porcentaje de testa debido a su menor tamaño de grano con respecto a los kabuli. En este sentido, Quintero-Soto (2015) reportó una correlación positiva entre el porcentaje de testa y el contenido de fenólicos totales ($r=0.74$, $p<0.001$) en garbanzo.

En general, los garbanzos tipos desi presentaron un mayor contenido de fenólicos totales y una mayor actividad antioxidante que los tipo kabuli, con excepción del genotipo ICC 3421, el cual mostró un comportamiento similar a los tipo kabuli. Como ya se mencionó anteriormente, el tamaño del grano y color de la testa pueden influenciar significativamente el contenido de fenólicos totales y por lo tanto, la actividad antioxidante.

2 Identificación de compuestos fenólicos

La identificación de los compuestos fenólicos presentes en los extractos metanólicos se realizó por medio de la comparación de los tiempos de retención, espectros UV-Visible, así como con el peso molecular y fragmentos obtenidos mediante el análisis de espectrometría de masas (MS), los cuales fueron comparados con datos obtenidos de estándares comerciales y reportados en la bibliografía.

En la Figura 6 se muestran cromatogramas representativos de los perfiles de compuestos fenólicos obtenidos de los genotipos ICC 5383 y Hoga 340. El análisis de UPLC-DAD mostró la presencia de 20 picos, los cuales fueron clasificados en dos grupos de compuestos fenólicos de acuerdo con el espectro UV que presentaron,

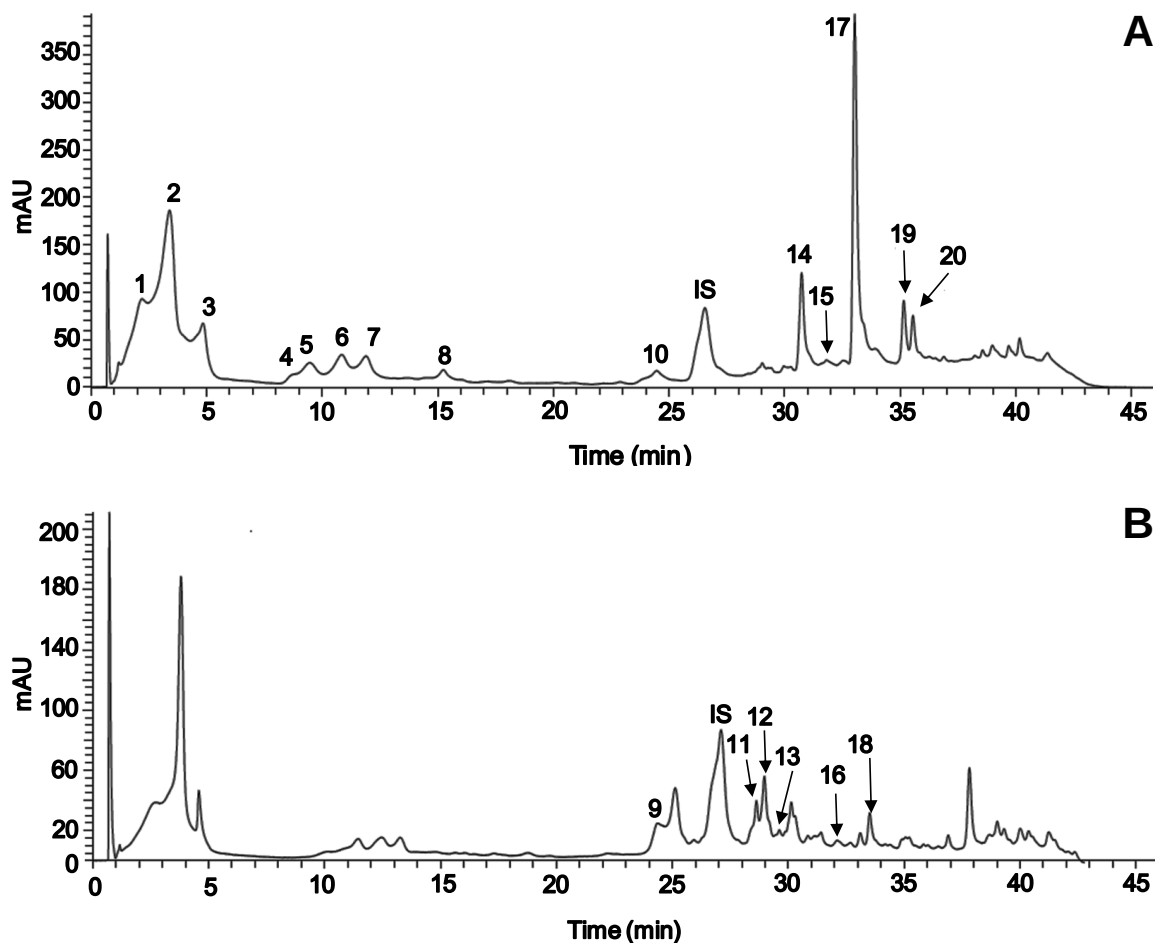


Figure 6. Separación cromatográfica (UPLC-DAD) de compuestos fenólicos de extractos metanólicos de los genotipos ICC 5383 (A) y Hoga 340 (B). Los picos fueron identificados como 1) ácido sinápico hexósido, 2) ácido gálico, 3) catequina pentosa, 4) ácido dihidroxibenzoico, 5) catequina, 6) vainillina, 7) ácido *p*-hidroxibenzoico, 8) ácido benzoico, 9) ácido *p*-coumárico, 10) ácido ferúlico, 11) miricetina-*O*-metil éter hexósido deoxihexósido pentosido, 12) miricetina-*O*-metil éter hexósido deoxihexósido, 13) rutina, 14) miricetina, 15) genisteína hexósida, 16) isoramnetina 3-*O*- β -D-glucopiranosido, 17) quercetina, 18) biocanina A, 19) kaempferol, 20) isoramnetina. Se utilizó ácido 2-hidroxicinámico como estándar interno (IS).

uno de ellos es el grupo de los ácidos fenólicos, el cual está compuesto por derivados del ácido hidroxicinámico y ácido hidroxibenzoico, y el otro de compuestos que pertenecen al grupo de los flavonoides.

Los compuestos fenólicos presentan distintos espectros UV-visible con base en su estructura (Figura 7). Los ácidos hidroxibenzoicos presentan el grupo benzoiil como su único cromóforo por lo que su espectro UV solo exhibe una banda en el rango de 255-280 nm. La estructura de los ácidos hidroxicinámicos contiene un sistema cinamoil, el cual es responsable de la banda I de absorción (310-325 nm) que se observa en el espectro UV (Abad-García y col 2009).

Los flavonoides muestran dos bandas de máxima absorción en el UV-Visible, una en la región de 240 a 285 nm (banda II) atribuida al anillo A, y la otra de 300 a 550 nm debida al anillo B (banda I). De éstas, la banda I es más útil porque proporciona información más selectiva, ya que todos los flavonoides absorben en la región de 240-285 nm. Los flavanoles exhiben sólo absorción de la banda II de 269-279 nm debido a la falta de conjugación entre los anillos A y B; lo mismo se aplica a las flavanonas, dihidroflavonoles e isoflavonas. Los flavonoles y las flavonas muestran una absorción de la banda I entre 300 y 380 nm (De Villiers y col 2016). Cabe señalar que un aumento en el número de grupos hidroxilo induce un desplazamiento batocrómico, es decir entre más grupos hidroxilo tenga la molécula la posición de la banda se moverá hacia arriba, mientras que la orto-metilación y glicosilación producen un desplazamiento hipsocrómico (Rice-Evans y col 1996).

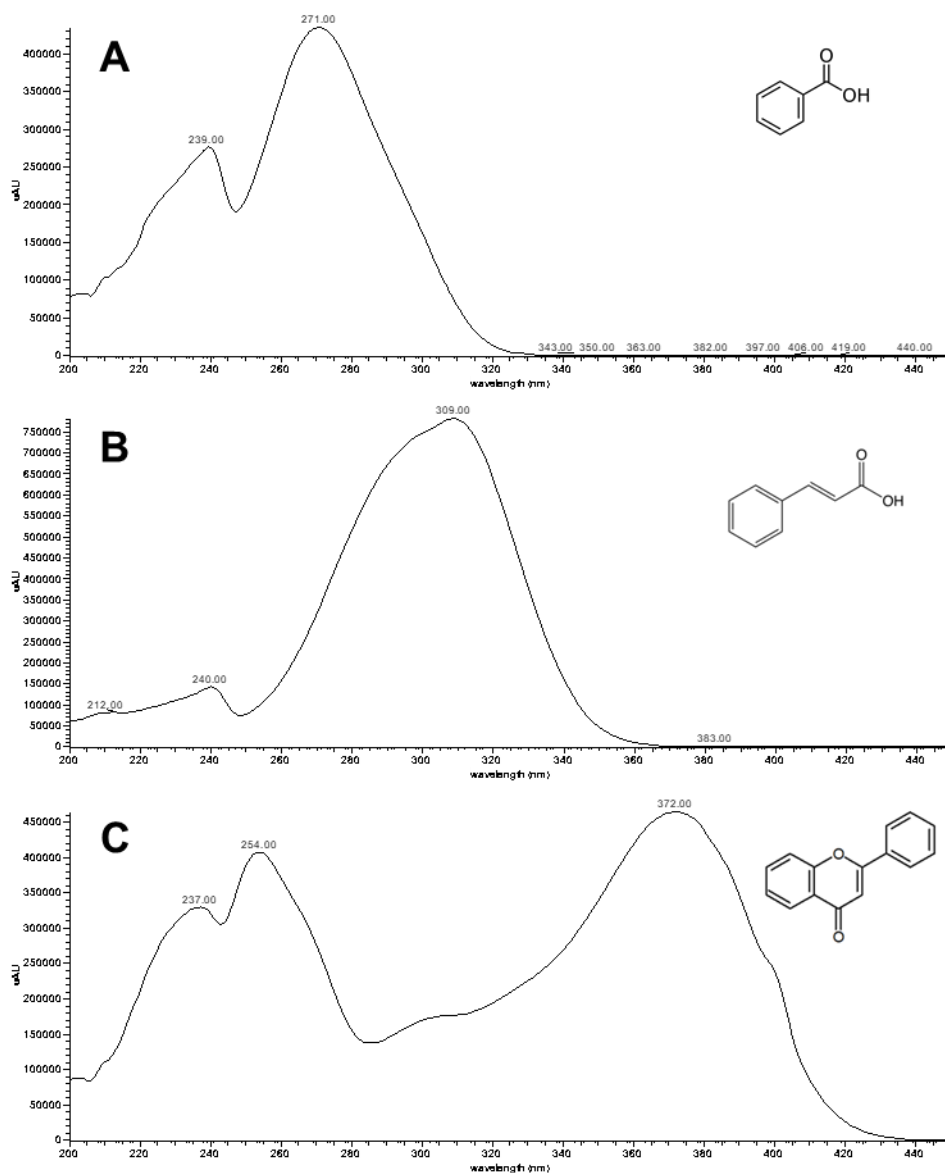


Figura 7. Espectros UV-Visible característicos de distintos tipos de compuestos fenólicos. (A) Ácido hidroxibenzoico. (B) Ácido hidroxicinámico. (C) Flavonoide.

Los iones moleculares y fragmentos generados durante la identificación por MS de los picos separados por UPLC en los extractos metanólicos de los genotipos de garbanzo estudiados se muestran en el Cuadro 8.

En el pico 1 se observó un espectro UV con una $\lambda_{\text{máx}}$ a 254 y 318 nm, indicando que es un derivado de ácido hidroxicinámico. Al analizarlo por MS se encontró un ión molecular $[\text{M-H}]^-$ con $m/z = 385$, y un fragmento con $m/z = 223$ que corresponde al peso del ácido sinápico, mientras que la diferencia corresponde a la pérdida de una molécula de hexosa $[\text{M-162-H}]^-$, por lo que se identificó como ácido sinápico hexósido; los otros fragmentos importantes que se observaron tuvieron una $m/z = 208$, 191 y 179 y corresponden a la posterior pérdida de metil, agua y carbono, respectivamente. Mekky y col (2015) reportaron la presencia de dos compuestos de ácido sinápico hexósido en extractos de garbanzo de Egipto.

El pico 2 fue identificado como ácido gálico por comparación de su tiempo de retención, espectro UV y patrón de fragmentación en MS con los de su estándar comercial. El análisis de MS en modo negativo mostró un ión molecular $[\text{M-H}]^-$ de $m/z = 169$ y dos fragmentos, uno de $m/z = 125$ que corresponde a la pérdida de una molécula de CO_2 $[\text{M-44-H}]^-$. Este patrón de fragmentación fue reportado previamente para ácido gálico por Mekky y col (2015) en garbanzo, Alshikh y col (2015) en lenteja y Stanisavljević y col (2015) en chícharo.

Cuadro 8. Compuestos fenólicos identificados por UPLC-ESI-MS en extractos metanólicos de genotipos de garbanzo

Pico	TR	Experimental m/z [M-H] ⁻	Peso Teórico [M]	Fragmentos principales	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	Compuesto	Subclase	Referencias
1	2.20	385	386	223 (46.7), 208 (37.7), 191 (5.0), 179 (5.6)	254, 318	Ácido sinápico hexósido	Ácido hidroxycinámico	Mekky y col (2015)
2	3.41	169	170	125 (100), 97 (8.1)	239, 270	Ácido gálico*	Ácido hidroxibenzoico	Alshikh y col (2015); Mekky y col (2015)
3	4.84	421	422	289 (16.8), 245 (10.3), 221 (6.9), 203 (2.5), 123 (25.6), 109 (2.0)	245, 283	Catequina pentosa	Flavan-3-ol	
4	8.63	153	154	137 (100), 109 (35.8)	280, 309	Ácido dihidroxibenzoico	Ácido hidroxibenzoico	Aguilera y col (2015); Mekky y col (2015)
5	9.45	289	290	245 (52.6), 221 (58.6), 203 (70.8), 151 (10.1), 123 (38.4)	245, 280	Catequina*	Flavan-3-ol	Alshikh y col (2015); Chen y col (2015); Mekky y col (2015); Mojica y col (2015)
6	10.87	151	152	125 (99.0), 93 (40.5)	280, 309	Vainillina*	Ácido hidroxibenzoico	Mojica y col (2015)
7	11.87	137	138	93 (75.8)	255	Ácido <i>p</i> -Hidroxibenzoico*	Ácido hidroxibenzoico	Aguilera y col (2015); Chen y col (2015); Mekky y col (2015)
8	15.24	121	122	77 (2.5)	282, 332	Ácido benzoico	Ácido hidroxibenzoico	Mekky y col (2015)
9	24.27	163	164	119 (100)	292	Ácido <i>p</i> -coumárico	Ácido hidroxycinámico	Aguilera y col (2015); Mekky y col (2015)
10	24.71	355	356	193 (28.6), 117 (69.5)	248, 322	Ácido ferúlico hexósido	Ácido hidroxycinámico	Mekky y col (2015)

Cuadro 8. Continuación.

11	28.59	771	772	756 (16.5), 639 (32.8), 331 (20.2), 330 (9.1), 316 (38.9), 315 (81.9), 178 (9.4), 151 (10.7)	253, 357	Miricetina-O-metil éter hexósido deoxihexósido pentosido	Flavonol	Mekky y col (2015)
12	28.92	639	640	331 (40.8), 316 (100)	253, 357	Miricetina-O-metil éter hexósido deoxihexósido	Flavonol	Mekky y col (2015)
13	29.64	609	610	301 (100), 300 (88.7), 151 (10.3)	248, 249	Rutina*	Flavonol	Aguilera y col (2015)
14	30.74	317	318	245 (4.5), 151 (11.4)	249, 348	Miricetina*	Flavonol	Mojica y col (2015)
15	31.80	431	432	269 (41.0), 215 (56.3)	250, 320	Genisteína hexósida	Isoflavona	Aguilera y col (2015)
16	32.12	477	478	315 (63.1), 314 (47.8), 300 (76.1), 299 (46.3), 285 (77.4), 271 (20.6), 179 (59.8)	249, 347	Isoramnetina 3-O- β -D- glucopiranosido	Flavonol	Mekky y col (2015)
17	33.03	301	302	179 (11.9), 151 (6.3)	253, 369	Quercetina*	Flavonol	PubChem CID: 5280343
18	33.55	283	284	268 (10.6), 253 (5.7), 240 (2.4), 151 (2.9)	260, 322	Biocanina A	Isoflavona	Aguilera y col (2015); Mekky y col (2015)
19	35.15	285	286	257 (12.6), 229 (10.3), 216 (11.0)	260, 360	Kaempferol*	Flavonol	Mekky y col (2015)
20	35.55	315	316	301 (9.3), 300 (68.6), 285 (47.9), 261 (10.9), 122 (4.6)	264, 348	Isoramnetina*	Flavonol	PubChem CID: 5281654

TR: Tiempo de Retención (min); $\lambda_{\text{máx}}$: longitud de onda de máxima absorción; [M-H]⁻: Ión molecular. *Identificación del compuesto fue confirmada con estándares comerciales.

El pico 3 mostró un espectro UV con $\lambda_{\text{máx}}$ de 245 y 283, similares a las del estándar de catequina pero con un tiempo de retención diferente. Al analizarlo por MS se observó un ión molecular $[M-H]^-$ con una $m/z = 421$ y un fragmento en el modo negativo con $m/z = 289$, el cual coincide con el peso de la molécula de catequina, mientras que la m/z que se perdió corresponde a restos de pentosil $[M-132-H]^-$, por lo que fue identificado como catequina pentosa. Se ha reportado la presencia de distintos derivados glicosilados de catequina en leguminosas como chícharo y lenteja (Amarowicz y col 2010; Stanisavljević y col 2015; Singh y col 2017).

En el pico 4 se observó un ión molecular $[M-H]^-$ con $m/z = 153$, y al fragmentarse aparecieron dos iones, uno con $m/z = 137$ que muestra la pérdida de un oxígeno $[M-O-H]^-$ y otro con $m/z = 109$, lo que señala la pérdida de un grupo CO_2 $[M-44-H]^-$. El espectro UV y patrón de fragmentación concuerdan con lo reportado por Mekky y col (2015) para ácido dihidroxibenzoico. Aguilera y col (2011) también identificaron un fragmento con $m/z = 153$ como ácido dihidroxibenzoico.

El compuesto del pico 5 fue identificado por comparación de su tiempo de retención y espectro UV con el estándar de catequina. Al analizarse por MS apareció un ión molecular $[M-H]^-$ con $m/z = 289$, el cual corresponde al peso de la catequina y un fragmento con $m/z = 245$ debido a la pérdida de CO_2 $[M-44-H]^-$. Alshikh (2015), Mekky y col (2015) y Stanisavljević y col (2015) reportaron patrones de fragmentación similares al observado en este estudio para catequina.

El pico 6 mostró un ión $[M-H]^-$ con $m/z = 151$ que al romperse generó dos fragmentos, uno con $m/z = 125$ debido al rompimiento del anillo $[M-26-H]^-$ y otro con $m/z = 93$ que muestra la posterior pérdida de un grupo metoxilo $[M-26-31-H-H]^-$, lo

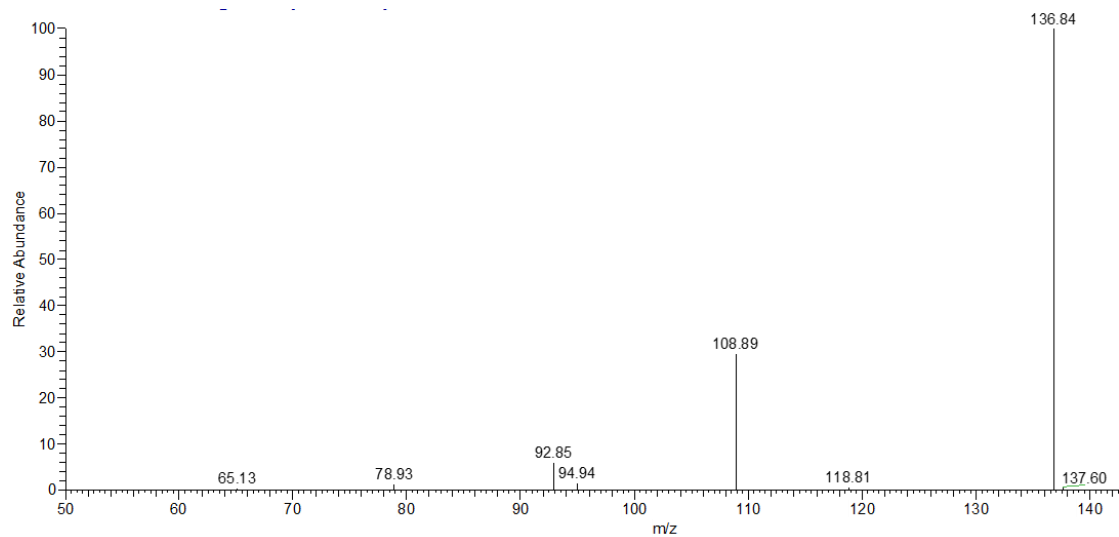
cual con lo observado para el estándar de vainillina. Esto es similar a lo reportado por Mojica y col (2015) quienes observaron la presencia de vainillina en distintas variedades de frijol.

El pico 7 se identificó como ácido *p*-hidroxibenzoico con base en su tiempo de retención y espectro UV, y su identidad fue confirmada por comparación de su patrón de fragmentación con el estándar (Figura 8). Por MS se observó un ión molecular $[M-H]^-$ con una $m/z = 137$ que corresponde al peso del ácido *p*-hidroxibenzoico y su fragmentación mostró un ión de $m/z = 93$, que representa la pérdida de CO_2 $[M-44-H]^-$ y concuerda con el patrón de fragmentación del estándar y el reportado por Stanisavljević y col (2015) para ácido *p*-hidroxibenzoico. Aguilera y col (2011) observaron en dos variedades de garbanzo un ión con $m/z = 137$ y lo identificaron como ácido *p*-hidroxibenzoico.

En el pico 8 se encontró un ión molecular $[M-H]^-$ con $m/z = 121$ y un fragmento con $m/z = 77$ debido a la pérdida del CO_2 $[M-44-H]^-$ del grupo carboxilo, patrón de fragmentación que coincide con el reportado por Mekky y col (2015) para ácido benzoico.

El pico 9 fue identificado por comparación de su espectro UV, tiempo de retención y patrón de fragmentación los cuales coincidieron con los del estándar de ácido *p*-coumárico. El ión molecular $[M-H]^-$ presentó una $m/z = 163$ y un fragmento con $m/z = 119$ por la pérdida de CO_2 $[M-44-H]^-$. Este patrón de fragmentación es similar al reportado por otros autores para ácido *p*-coumárico en garbanzo y otras leguminosas (Dueñas y col 2004; Amarowicz y col 2010; Alshikh y col 2015; Mekky y col 2015 y Stanisavljević y col 2015).

A



B

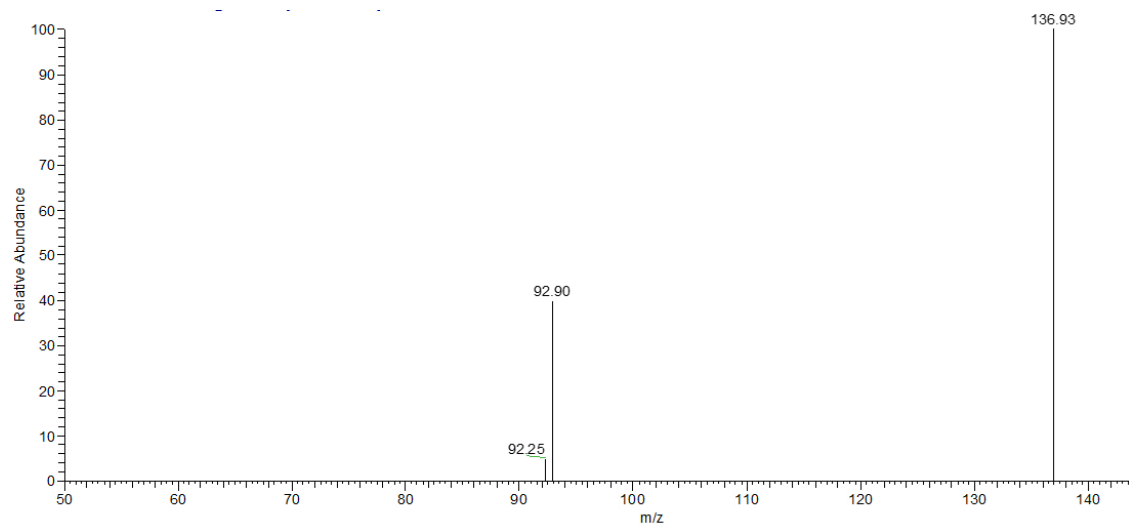


Figura 8. Espectro de masas MS^2 del ión de $m/z = 137$ del ácido *p*-hidroxibenzoico.
(A) Muestra. (B) Estándar comercial.

En el pico 10 apareció un ión molecular con $[M-H]^-$ $m/z = 355$ que al romperse generó un fragmento con $m/z = 193$ que corresponde al peso del ácido ferúlico, la m/z que desapareció representa la pérdida de una molécula de hexosa $[M-162-H]^-$, por lo que se identificó como ácido ferúlico hexósido. La presencia de este compuesto ha sido reportada previamente en garbanzo por Mekky y col (2015). Otros investigadores han reportado un ión con $m/z = 193$ y los han identificado como ácido ferúlico en leguminosas (Dueñas y col 2004; Amarowicz y col 2010; Alshikh y col 2015; Stanisavljević y col 2015).

Los picos 11 y 12 mostraron espectros UV similares al estándar de miricetina, pero con diferentes tiempos de retención. En el pico 11 se observó un ión molecular $[M-H]^-$ con $m/z = 771$, y entre los iones de sus fragmentos tenemos uno con $m/z = 639$ debido a la pérdida de un grupo pentosil $[M-132-H]^-$ que posteriormente se rompe dando iones con $m/z = 330$ que corresponden a la pérdida de una molécula de hexosa y una deoxihexosa $[M-308(162-146)-H]^-$ y el ión con $m/z = 316$ muestra la pérdida del grupo metil $[M-308-15-H]^-$ y corresponden al peso de la molécula de miricetina, por lo que fue identificado como miricetina-O-metil éter hexósido deoxihexósido pentosido. En el pico 12 apareció un ión molecular $[M-H]^-$ con $m/z = 639$, así como dos fragmentos uno con $m/z = 331$ debido a la pérdida de dos moléculas, una hexosa y una deoxihexosa $[M-308(162-146)-H]^-$, y otro con $m/z = 316$ que corresponde a la pérdida de un grupo metil $[M-308-15-H]^-$, y concuerda con el peso de la molécula de miricetina por lo que fue identificado como miricetina-O-metil éter hexósido deoxihexósido. Los patrones de fragmentación de estos picos concuerdan con los reportados por Mekky y col (2015) para estos compuestos.

El compuesto del pico 13 fue identificado como rutina, el cual presentó un ión molecular $[M-H]^-$ con $m/z = 609$ que corresponde al peso de la molécula de rutina y al romperse aparecieron dos fragmentos, uno de $m/z = 301$ correspondiente a quercetina y representa la pérdida del disacárido rutinosa $[M-308-H]^-$ y otro de $m/z = 151$ debido a la ruptura del disacárido. Este patrón de fragmentación concuerda con el observado para el estándar de rutina y es similar a lo reportado por Aguilera y col (2011), Mekky y col (2015), y Stanisavljević y col (2015) para rutina en garbanzo y chícharo.

El pico 14 fue identificado con base en su tiempo de retención, espectro UV y patrón de fragmentación. Por MS se observó un ión molecular $[M-H]^-$ de $m/z = 317$ que concuerda con el peso de la molécula de miricetina, y sus fragmentos tuvieron $m/z = 245$ y 151 lo que corresponde con el patrón de fragmentación del estándar de miricetina.

En el pico 15 se observó un ión molecular $[M-H]^-$ con $m/z = 431$ que al romperse generó un fragmento con $m/z = 269$ que corresponde a la pérdida de un residuo de hexosa $[M-162-H]^-$, y concuerda con el peso molecular de la genisteína, por lo que fue identificado como genisteína hexósida. Este compuesto fue previamente reportado en garbanzo por Aguilera y col (2011).

En el pico 16 se observó un espectro UV similar al del flavonoide isoramnetina pero con un tiempo de retención diferente al del estándar. Al ser analizado por MS (Figura 9) apareció un ión molecular $[M-H]^-$ con $m/z = 477$ que al romperse generó un fragmento con $m/z = 315$, el cual corresponde a la pérdida de una hexosa $[M-162-H]^-$

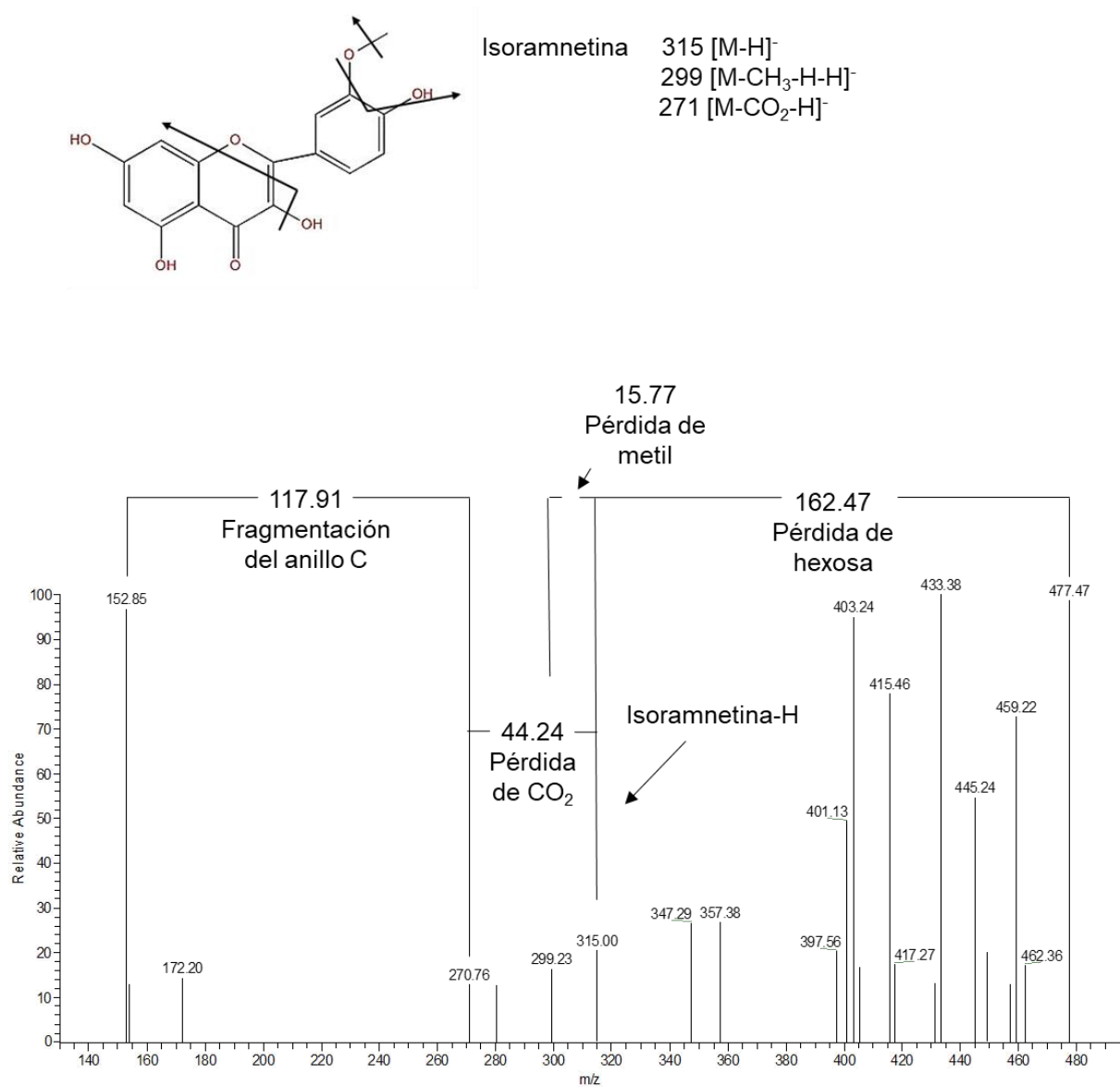


Figura 9. Patrón de fragmentación de Isoramnetina 3-O-β-D-glucopiranosido.

y concuerda con el peso de la isoramnetina. Los iones de $m/z = 299$ y 271 son producto de la pérdida de un grupo metil y CO_2 , respectivamente, mientras que el ión con $m/z = 151$ ocurre por la fragmentación del anillo C. Mekky y col (2015) reportaron este patrón de fragmentación para un derivado de la isoramnetina por lo que el pico 16 fue identificado como isoramnetina 3-*O*- β -D-glucopiranosido.

El pico 17 fue identificado por comparación de su tiempo de retención, espectro UV y patrón de fragmentación. Por MS se observó un ión molecular $[\text{M-H}]^-$ de $m/z = 301$, el cual corresponde al peso de la quercetina. Otros fragmentos importantes observados tuvieron una $m/z = 179$ y 151 , lo cual concuerda con los del estándar de quercetina y lo previamente reportado por Mekky y col (2015) para quercetina.

El pico 18 se identificó una isoflavona con base en su espectro UV y se encontró un ión molecular $[\text{M-H}]^-$ con $m/z = 283$, que al romperse forma el fragmento con $m/z = 268$ debido a que perdió un grupo metil $[\text{M-15-H}]^-$, y otro con $m/z = 253$ por la pérdida de un segundo grupo metil $[\text{M-15-15-H}]^-$. Aguilera y col (2011) reportaron igualmente un ión molecular con $m/z = 283$ y lo identificaron como biocanina A en dos variedades de garbanzo.

El pico 19 fue identificado como kaempferol por comparación de sus espectros UV y tiempo de retención. Su identidad fue comprobada por medio de su patrón de fragmentación. En este pico apareció un ión molecular $[\text{M-H}]^-$ con $m/z = 285$ y fragmentos con $m/z = 257$, 229 y 216 , los cuales concuerdan con el patrón de fragmentación de su estándar de kaempferol. La presencia de kaempferol y sus derivados ha sido previamente reportada en garbanzo y otras leguminosas por

distintos investigadores (Amarowicz y col 2010, Aguilera y col 2011, Alshikh y col 2015, Mekky y col 2015, Stanisavljević y col 2015).

El pico 20 se identificó con base en su tiempo de retención, espectro UV y patrón de fragmentación como isoramnetina y su identidad fue confirmada con su estándar. En este pico apareció un ión molecular $[M-H]^-$ con $m/z = 315$ que al fragmentarse generó un ión de $m/z = 300$ que corresponde a la pérdida de un grupo metil $[M-15-H]^-$ y concuerda con el peso de un residuo de quercetina.

De los 20 compuestos fenólicos que fueron identificados, 40% son de tipo ácido fenólico y 60% son tipo flavonoide. Esto concuerda con lo reportado por Mekky y col (2015) quienes también observaron un mayor número de compuestos de tipo flavonoide (56%) que de tipo ácido fenólico (44%) en siete genotipos de garbanzo de Egipto.

3 Cuantificación de compuestos fenólicos identificados

a Ácidos fenólicos

En el Cuadro 9 se muestra el contenido de compuestos tipo ácido fenólico identificados en los extractos metanólicos de los garbanzos estudiados. Dentro de estos los más abundantes en ambos tipos de garbanzo fueron ácido sinápico hexósido, seguido por ácido gálico y ácido dihidroxibenzoico.

El ácido sinápico hexósido se encontró en todos los genotipos y su contenido varió de 37.5 a 402.6 $\mu\text{g/g}$ en los de tipo kabuli y de 41.3 a 243.8 $\mu\text{g/g}$ para los desi.

Cuadro 9. Contenido de ácidos fenólicos en los extractos metanólicos de los genotipos de garbanzo.

Genotipo	Ácido sinápico hexósido ¹	Ácido gálico ²	Ácido Dihidroxibenzoico ¹	Vainillina ²	Ácido p- hidroxibenzoico ²	Ácido benzoico ¹	Ácido p- coumárico ²	Ácido ferúlico hexósido ¹
KABULI								
Bco. Sin. 92	402.6 ± 12.5 ^a	201.5 ± 4.4 ^b	3.3 ± 0.3 ^a	0.89 ± 0.06 ^a	53.4 ± 4.8 ^b	ND	ND	2.3 ± 0.1 ^c
Blanoro	235.6 ± 16.2 ^c	194.9 ± 2.4 ^b	2.4 ± 0.1 ^c	0.78 ± 0.02 ^b	49.1 ± 3.0 ^b	3.7 ± 0.2 ^a	ND	4.1 ± 0.3 ^b
Hoga 021	143.9 ± 60.4 ^e	108.1 ± 0.9 ^e	ND	0.63 ± 0.07 ^c	22.0 ± 6.5 ^c	2.4 ± 0.1 ^c	4.1 ± 0.5 ^a	8.6 ± 0.2 ^a
Hoga 340	37.5 ± 2.0 ^f	44.5 ± 3.4 ^f	1.9 ± 0.1 ^d	0.45 ± 0.04 ^d	4.8 ± 0.3 ^d	ND	2.1 ± 0.6 ^b	8.9 ± 0.9 ^a
Jumbo 2010	115.8 ± 3.2 ^e	104.7 ± 1.7 ^e	ND	0.59 ± 0.02 ^c	19.5 ± 1.2 ^c	3.1 ± 0.1 ^b	ND	1.3 ± 0.02 ^{cd}
Suprema 03	183.7 ± 15.6 ^d	119.2 ± 6.2 ^d	2.9 ± 0.1 ^b	0.40 ± 0.02 ^d	5.8 ± 0.2 ^d	ND	ND	4.5 ± 0.5 ^b
Progreso 95	207.9 ± 4.6 ^{cd}	113.1 ± 1.5 ^{de}	ND	0.95 ± 0.04 ^a	5.8 ± 0.5 ^d	ND	ND	9.7 ± 0.5 ^a
Sto Domingo 82	132.8 ± 0.5 ^e	133.7 ± 1.3 ^c	ND	0.43 ± 0.05 ^d	28.4 ± 0.1 ^c	ND	ND	0.9 ± 0.1 ^d
Surutato 77	338.3 ± 6.0 ^b	225.7 ± 0.9 ^a	ND	0.96 ± 0.04 ^a	85.8 ± 7.5 ^a	3.1 ± 0.2 ^b	ND	2.4 ± 0.3 ^c
DESI								
ICC 3421	243.8 ± 2.6 ^a	183.9 ± 2.0 ^a	4.2 ± 0.2 ^c	ND	56.6 ± 2.3 ^a	ND	ND	ND
ICC 6306	214.2 ± 2.6 ^b	111.9 ± 2.7 ^b	7.2 ± 0.3 ^a	1.25 ± 0.03 ^b	52.6 ± 4.2 ^a	15.7 ± 0.7 ^a	ND	4.7 ± 0.3 ^b
ICC 3761	151.8 ± 9.0 ^{cd}	109.3 ± 3.5 ^{bc}	ND	0.78 ± 0.03 ^c	24.3 ± 6.4 ^c	ND	ND	4.4 ± 0.1 ^{bc}
ICC 4418	172.2 ± 2.7 ^c	97.1 ± 1.8 ^c	ND	1.96 ± 0.01 ^a	32.8 ± 0.7 ^b	10.5 ± 0.3 ^b	ND	7.4 ± 0.2 ^a
ICC 3512	115.7 ± 3.9 ^e	76.5 ± 5.2 ^d	ND	0.78 ± 0.03 ^d	4.6 ± 0.2 ^{ef}	ND	ND	1.9 ± 0.1 ^f
ICC 5383	146.3 ± 0.7 ^d	104.1 ± 2.4 ^{bc}	1.9 ± 0.1 ^e	0.87 ± 0.02 ^d	14.3 ± 0.2 ^d	2.6 ± 0.1 ^c	ND	3.2 ± 0.1 ^d
ICC 13124	41.3 ± 0.8 ^f	37.2 ± 0.8 ^e	6.6 ± 0.2 ^b	0.43 ± 0.02 ^e	1.6 ± 0.1 ^f	ND	0.91 ± 0.1	0.8 ± 0.1 ^g
ICC 14872	107.5 ± 5.5 ^e	96.6 ± 12.4 ^c	2.9 ± 0.1 ^d	0.84 ± 0.08 ^d	15.6 ± 1.1 ^d	ND	ND	2.6 ± 0.1 ^e
ICC 5613	42.2 ± 4.4 ^f	37.5 ± 2.5 ^e	ND	1.88 ± 0.01 ^a	10.6 ± 0.6 ^{de}	ND	ND	4.1 ± 0.2 ^c

1µg equivalentes de aglicona/g de muestra bs; 2µg/ g de muestra bs; ND= No detectado. Letras diferentes en una misma columna para el mismo tipo de garbanzo indican diferencias significativas (p <0.05) entre las medias de acuerdo con la prueba de Tukey.

Estos valores son mayores a los reportados por Parmar y col (2016) para ácido sinápico en las variedades de garbanzo PBG 5 y BG1053 (20 y 40 µg/g, respectivamente).

El ácido dihidroxibenzoico solo se encontró en 4 genotipos kabuli (Blanco Sinaloa 92, Blanoro, Hoga 340 y Suprema 03) y su contenido varió de 1.9 a 2.9 µg/g, mientras que en los de tipo desi se encontró en 5 genotipos con valores de 1.9 a 7.2 µg/g. Estos valores caen dentro del rango reportado por Aguilera y col (2011) para las variedades de garbanzo Sinaloa (0.44 µg/g) y Castellano (13.39 µg/g).

La vainillina se identificó en todos los genotipos kabuli y su contenido varió de 0.40 a 0.96 µg/g, mientras que en los desi se encontró en todos los genotipos con excepción del ICC 3421, con valores de 0.43 a 1.96 µg/g.

El ácido *p*-hidroxibenzoico se encontró en todos los genotipos, con rangos de valores de 4.8-85.8 µg/g y 1.6-56.6 µg/g en kabuli y desi, respectivamente. Aguilera y col (2011) reportaron un contenido de 6.01 µg/g para este ácido en garbanzo cv. Sinaloa pero no lo detectaron en el cultivar Castellano. El ácido benzoico se detectó en cuatro de los genotipos kabuli (Blanoro, Hoga 021, Jumbo 2010 y Surutato 77) con valores de 2.4 a 3.7 µg/g y en tres genotipos desi (ICC 4418, ICC 5383 y ICC 6306) donde varió de 2.6 a 15.7 µg/g.

El ácido *p*-coumárico solamente se encontró en los genotipos kabuli Hoga 021 y Hoga 340 (4.1 y 2.1 µg/g, respectivamente) y en el desi ICC 13124 (0.91 µg/g). Stanisavljević y col (2015) reportaron un contenido de ácido *p*-coumárico de 2.14 a

3.23 µg/g en la testa de cuatro variedades de chícharo, los cuales caen dentro del rango observado en el presente estudio.

El contenido de ácido ferúlico hexósido en los genotipos tipo kabuli varió de 1.3 a 9.7 µg/g y en los desi de 0.8 a 7.4 µg/g, con excepción del genotipo ICC 3421 en donde no se detectó. Estos valores son inferiores al reportado por Kalogeropoulos y col (2010) para ácido ferúlico en garbanzo (125.7 µg/g), pero son similares a los reportados por Alshikh y col (2015) para este ácido en seis variedades de lentejas (0.30 a 2.82 µg/g).

b Flavonoides

En el Cuadro 10 se muestra la cuantificación de los flavonoides identificados, que incluyen flavonoles, isoflavonas y flavan-3-ols, los cuales presentaron una amplia variabilidad entre los materiales analizados, siendo catequina y catequina pentosa los únicos presentes en todos los genotipos.

Los contenidos de catequina y catequina pentosa variaron de 4.7 a 92.4 µg/g y 13.3 a 100.1 µg/g en los genotipos kabuli, y de 5.5 a 72.2 µg/g y 4.7 a 92.4 µg/g en los desi, respectivamente. Estos valores son inferiores a lo observado por Parmar y col (2016) en el genotipo de garbanzo BG 1053 (280 µg/g), pero son similares a lo observado por Alshikh y col (2015) en lentejas.

Cuadro 10. Contenido de flavonoides en los extractos metanólicos de los genotipos de garbanzo

Genotipo	Catequina pentosa ¹	Catequina ²	Miricetina-O-metil éter hexósido deoxihexósido ¹	Miricetina-O-metil éter hexósido deoxihexósido ¹	Rutina ²	Miricetina ²	Genisteína hexósida ¹	Isoramnetina 3-O-β-D-glucopiranosido ¹	Quercetina ²	Biocanina A ¹	Kaempferol ²	Isoramnetina ²
KABULI												
Bco. Sin. 92	100.1 ± 7.7 ^a	29.3 ± 0.9 ^c	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	5.3 ± 0.3 ^b	0.59 ± 0.1 ^b	ND
Blanco	71.2 ± 4.6 ^c	48.5 ± 1.6 ^b	ND	0.53 ± 0.08 ^b	0.26 ± 0.01 ^b	0.9 ± 0.1 ^b	0.4 ± 0.1 ^c	2.2 ± 0.2 ^b	ND	4.5 ± 0.1 ^b	0.38 ± 0.1 ^c	ND
Hoga 021	34.1 ± 1.6 ^f	25.3 ± 1.6 ^{cd}	1.7 ± 0.14 ^a	1.61 ± 0.20 ^a	0.62 ± 0.07 ^a	2.1 ± 0.4 ^a	1.1 ± 0.1 ^b	3.0 ± 0.4 ^a	ND	3.5 ± 0.3 ^c	0.41 ± 0.1 ^c	ND
Hoga 340	13.3 ± 0.5 ^g	4.7 ± 0.1 ^e	1.5 ± 0.03 ^b	1.67 ± 0.03 ^a	0.66 ± 0.1 ^a	1.2 ± 0.1 ^b	1.8 ± 0.1 ^a	1.6 ± 0.1 ^c	0.5 ± 0.01	2.1 ± 0.2 ^d	0.38 ± 0.1 ^c	ND
Jumbo 2010	30.2 ± 1.3 ^f	20.6 ± 1.9 ^d	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2.1 ± 0.2 ^d	ND	ND
Suprema 03	47.9 ± 4.1 ^e	24.2 ± 0.2 ^d	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	4.4 ± 0.2 ^b	ND	ND
Progreso 95	49.4 ± 2.7 ^{ab}	8.7 ± 0.3 ^e	ND	ND	ND	1.7 ± 0.1 ^a	1.8 ± 0.1 ^a	2.8 ± 0.2 ^a	ND	8.1 ± 0.8 ^a	0.72 ± 0.1 ^a	7.9 ± 0.8
Sto Domingo 82	56.6 ± 2.7 ^d	47.1 ± 1.5 ^b	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.6 ± 0.1 ^e	ND	ND
Surutato 77	79.4 ± 6.2 ^b	92.4 ± 3.3 ^a	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2.3 ± 0.1 ^d	ND	ND
DESI												
ICC 3421	94.8 ± 0.3 ^a	64.9 ± 0.4 ^b	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.9 ± 0.1 ^e	0.34 ± 0.1 ^f	ND
ICC 6306	71.8 ± 3.1 ^c	72.2 ± 4.1 ^a	ND	ND	ND	17.8 ± 0.5 ^b	4.9 ± 0.4 ^{bc}	ND	9.9 ± 1.03 ^c	ND	2.85 ± 0.1 ^b	26.2 ± 1.6 ^c
ICC 3761	59.6 ± 4.1 ^d	41.6 ± 0.7 ^c	ND	ND	ND	9.0 ± 0.2 ^c	2.8 ± 0.1 ^{cd}	ND	8.8 ± 0.55 ^c	4.8 ± 0.3 ^d	2.73 ± 0.1 ^d	25.6 ± 0.3 ^c
ICC 4418	82.5 ± 0.2 ^b	41.4 ± 2.3 ^c	ND	ND	ND	21.9 ± 0.3 ^a	8.2 ± 2.5 ^a	ND	14.5 ± 0.04 ^a	12.9 ± 0.2 ^a	5.50 ± 0.1 ^a	53.3 ± 0.5 ^a
ICC 3512	34.2 ± 1.0 ^f	10.9 ± 0.3 ^f	ND	ND	ND	8.5 ± 0.1 ^{cd}	1.9 ± 0.2 ^d	ND	6.1 ± 0.02 ^d	5.7 ± .01 ^c	1.82 ± 0.1 ^d	19.4 ± 0.4 ^d
ICC 5383	58.0 ± 1.3 ^d	20.7 ± 0.8 ^e	ND	ND	ND	7.2 ± 0.5 ^d	1.3 ± 0.1 ^d	ND	8.9 ± 0.18 ^c	ND	2.25 ± 0.2 ^c	21.9 ± 2.1 ^{cd}
ICC 13124	13.4 ± 0.6 ^g	10.4 ± 0.4 ^g	ND	ND	ND	5.2 ± 0.4 ^e	ND	ND	4.8 ± 0.28 ^f	ND	1.25 ± 0.1 ^e	12.3 ± 0.9 ^e
ICC 14872	48.2 ± 1.5 ^e	35.6 ± 1.5 ^d	ND	ND	ND	8.3 ± 1.3 ^{cd}	ND	ND	5.4 ± 0.43 ^d	9.2 ± 0.3 ^b	1.55 ± 0.1 ^{de}	13.5 ± 1.2 ^e
ICC 5613	38.4 ± 2.8 ^f	5.5 ± 0.1 ^g	ND	ND	ND	18.9 ± 0.7 ^b	5.9 ± 0.7 ^{ab}	ND	12.3 ± 0.54 ^b	ND	2.95 ± 0.1 ^b	31.6 ± 2.9 ^b

Letras diferentes en una misma columna para el mismo tipo de garbanzo indican diferencias significativas (P<0.05) entre las medias de acuerdo con la prueba de Tukey. Letras diferentes para los valores promedio de cada tipo indican diferencias significativas (P<0.05) de

El flavonol miricetina se encontró en 4 genotipos kabuli (Blanoro, Hoga 021, Hoga 340 y Progreso 95) con valores de 0.9 a 2.1 $\mu\text{g/g}$, y en los genotipos desi (con excepción del ICC 3221) cuyo contenido varió de 5.2 a 21.9 $\mu\text{g/g}$. Por otro lado, los dos derivados de miricetina solo estuvieron presentes en algunos genotipos kabuli.

El flavonoide rutina se encontró en tres genotipos kabuli (Blanoro, Hoga 021 y Hoga 340) con contenidos de 0.26, 0.62 y 0.66 $\mu\text{g/g}$, respectivamente. Aguilera col (2011) reportaron un contenido de rutina de 0.52 $\mu\text{g/g}$ para garbanzo variedad Castellano, pero no lo detectaron en la variedad Sinaloa. Fratianni y col (2014) y Wang y col (2016b) no detectaron rutina en garbanzo pero si en otras leguminosas como lenteja y frijol negro.

La isoflavona genisteína hexósida se encontró en cuatro genotipos kabuli (Blanoro, Hoga 021, Hoga 340 y Progreso 95) en los que varió de 0.4 a 1.8 $\mu\text{g/g}$, mientras que en los materiales tipo desi se encontró en 6 genotipos con valores de 1.3 a 8.2 $\mu\text{g/g}$, los cuales son cercanos a lo reportado por Aguilera y col (2011) en garbanzo cv. Castellano (13.26 $\mu\text{g/g}$).

El flavonol quercetina se detectó en todos los genotipos desi con excepción de ICC 3421, con valores de 4.8 a 14.5 $\mu\text{g/g}$, mientras que en los tipo kabuli solo se detectó en Hoga 340 (0.5 $\mu\text{g/g}$) y su valor fue similar al reportado por Aguilera y col (2011) para un derivado de quercetina (0.52 $\mu\text{g/g}$) en garbanzo Sinaloa. Estos resultados corresponden con lo observado por Magalhães y col (2017) quienes detectaron derivados de quercetina en un genotipo desi pero no en genotipos kabuli.

La isoflavona biocanina A fue detectada en todos los genotipos kabuli y su contenido varió de 0.6 a 8.1 $\mu\text{g/g}$, mientras que en los desi solo se encontró en 5 genotipos cuyos contenidos oscilaron de 1.9 a 12.9 $\mu\text{g/g}$. Estos valores son cercanos al reportado por Aguilera y col (2011) en garbanzo cv. Castellano (16.14 $\mu\text{g/g}$).

El compuesto kaempferol se detectó en 5 genotipos kabuli (Blanco Sinaloa 92, Blanoro, Hoga 021, Hoga 340 y Progreso 95) en los que su contenido varió de 0.38 a 0.72 $\mu\text{g/g}$, valores similares al reportado por Aguilera y col (2011) para un derivado de kaempferol en garbanzo variedad Sinaloa (0.60 $\mu\text{g/g}$). En cuanto a los garbanzos desi, el kaempferol se detectó en todos los genotipos y su concentración varió de 0.34 a 5.50 $\mu\text{g/g}$, valores similares a los reportados por Stanisavljević y col (2015) en la testa de cuatro variedades de chícharo (3.77 – 6.49 $\mu\text{g/g}$).

Isoramnetina se detectó en casi todos los genotipos (con excepción del ICC 3421) en los que varió de 12.3 a 26.2 $\mu\text{g/g}$, mientras que en los kabuli solo se detectó en el genotipo Progreso 95 (7.9 $\mu\text{g/g}$). Su derivado isoramnetina 3-O- β -D-glucopiranosido fue identificado en 4 genotipos kabuli (Blanoro, Hoga 021, Hoga 340 y Progreso 95) con contenidos de 1.58 a 3.02 $\mu\text{g/g}$, pero no fue detectado en los genotipos desi.

En promedio, los garbanzos kabuli presentaron un mayor contenido de compuestos tipo ácido fenólico que los desi con 379.7 y 267.4 $\mu\text{g/g}$, respectivamente. Esto corresponde con lo reportado por Sreerama y col (2010) quienes observaron un mayor contenido de ácidos fenólicos en los cotiledones de garbanzo. Los garbanzos tipo kabuli presentan granos de mayor tamaño que los tipo desi, por lo que su cotiledón es más grande y por lo tanto, es de esperarse que estos genotipos

presenten un mayor contenido de ácidos fenólicos que los desi. Lo opuesto se observó en el caso de los flavonoides, ya que los garbanzos tipo desi presentaron un mayor contenido que los kabuli, con 139.6 y 95.5 $\mu\text{g/g}$, respectivamente. Esto se puede atribuir a que los flavonoides son los principales responsables del color de la testa en los genotipos tipo desi, los cuales además poseen un tamaño de grano pequeño y un mayor porcentaje de testa.

Las diferencias cuali y cuantitativas encontradas con respecto a lo reportado en garbanzo en estudios previos, pueden ser atribuidas a diferencias en la base genética, en las condiciones de cultivo y en los métodos de extracción. No obstante, la gran variabilidad de fenólicos observadas en los materiales estudiados refleja su amplia diversidad genética y sugiere que representan una buena fuente de antioxidantes para el mejoramiento de garbanzo.

C ASOCIACIÓN ENTRE COMPUESTOS FENÓLICOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Al contrastar el contenido de fenólicos totales con las actividades antioxidantes de cada uno de los métodos evaluados observaron correlaciones positivas altamente significativas: DPPH ($r=0.949$, $p<0.001$), ABTS ($r=0.928$, $p<0.001$) y FRAP ($r=0.988$, $p<0.001$). Esto concuerda con las correlaciones reportadas previamente por Zhao y col (2014) para DPPH ($r=0.830$, $p<0.01$), Han y Baik (2008) para ABTS ($r=0.934$, $p<0.01$) y Segev y col (2010) para FRAP ($r=0.820$, $P<0.01$) en garbanzo y sugiere que los fenólicos son los principales compuestos responsables de la actividad

antioxidante en los extractos metanólicos. El método de FRAP mostró la correlación positiva más elevada con el contenido de fenólicos, lo cual puede deberse a que el método para la cuantificación de fenólicos totales consiste en una reacción de óxido-reducción.

El análisis de componentes principales (PCA) mostró las similitudes y diferencias entre los genotipos de garbanzo (Figura 10). Dos componentes explicaron el 89.66% de la variación total observada en el contenido de fenólicos y la actividad antioxidante. El primer componente (PC1, 57.16%) fue asociado con la actividad antioxidante, fenólicos totales, flavonoles e isoflavonas, mientras que el segundo con los ácidos hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos y flavan-3-oles (PC2, 32.5%). Todos los genotipos desi con semillas coloreadas estuvieron en el plano positivo de PC1, lo que corresponde con sus valores más altos de actividad antioxidante y contenido de flavonoides. Por el contrario, los genotipos kabuli de color claro y un genotipo desi (ICC 3421) estuvieron en el plano negativo de PC1. Basado en este análisis, los mejores genotipos de garbanzo fueron ICC 4418, ICC 6306 e ICC 3761, los cuales se localizaron en el cuadrante positivo de ambos componentes principales; estos genotipos con granos de color negro mostraron las mayores actividades antioxidantes y contenido de isoflavonas y flavonoles. Algunos genotipos con granos de color claro (*i.e.* Surutato 77, Bco. Sin. 92, y Blanoro) también fueron prometedores debido a que mostraron los mayores valores de ácidos hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos y flavan-3-oles.

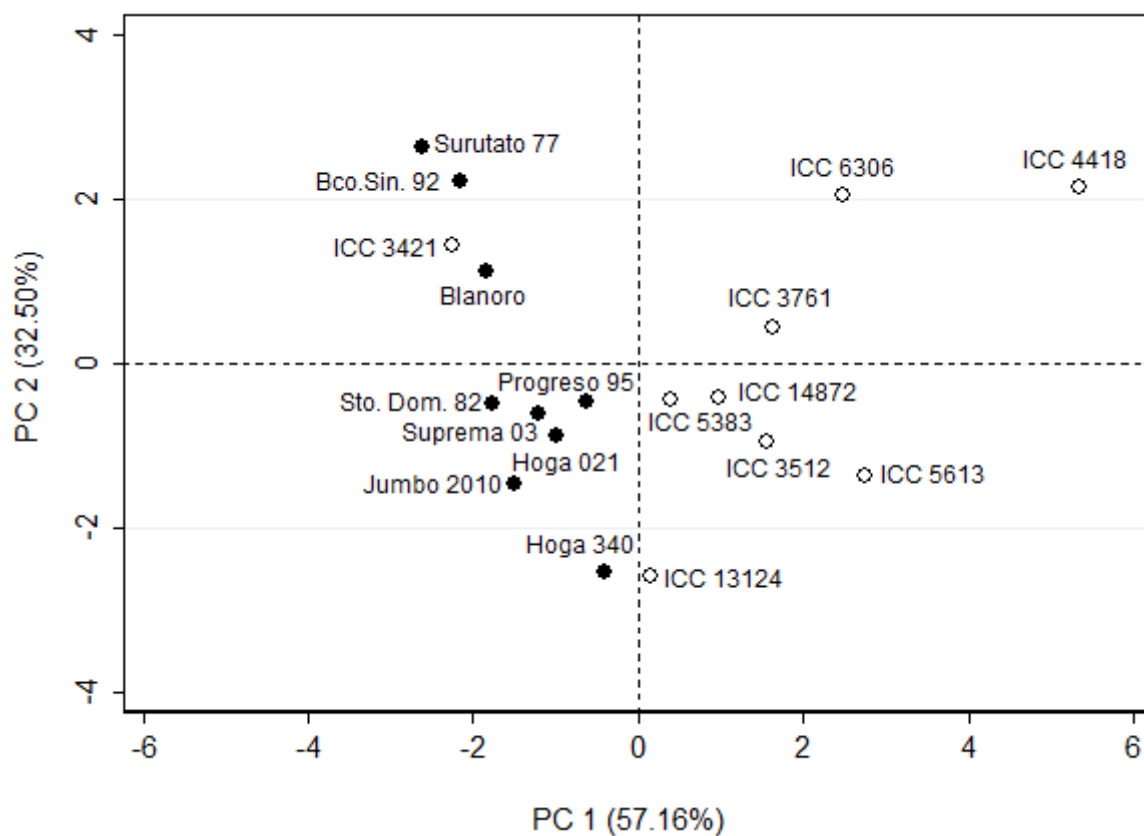


Figura 10. Análisis de componentes principales de 18 genotipos de garbanzo usando la actividad antioxidante (ABTS, DPPH, FRAP) y el contenido de ácidos hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos, flavan-3-oles, isoflavonas y flavonoles. Kabuli (círculos negros) y desi (círculos blancos).

Se seleccionaron como compuestos fenólicos mayoritarios al ácido sinápico (aglicona de sinápico hexósido), ácido gálico, isoramnetina, catequina, miricetina y quercetina, los cuales representan el 70.1% de la suma de las concentraciones molares de todos los compuestos identificados en el extracto (Cuadros 9 y 10). En este sentido, primeramente fueron evaluados a la misma concentración a la que se encontraron en el extracto del genotipo ICC 4418 para determinar su contribución a la actividad antioxidante (Cuadro 11). El estándar de ácido gálico (531.6 $\mu\text{mol/L}$) mostró la mayor actividad antioxidante por el método de ABTS y FRAP, mientras que miricetina (64.3 $\mu\text{mol/L}$) y quercetina (44.5 $\mu\text{mol/L}$) mostraron los valores más bajos; la actividad antioxidante de estos compuestos concuerda con su concentración en el extracto. Asumiendo un efecto aditivo, la suma de las actividades individuales representó el 34.3%, 69.8%, y 47.0% de la actividad antioxidante evaluada en los extractos por los métodos de ABTS, DPPH, y FRAP, respectivamente. Este resultado podría deberse a que otros compuestos fenólicos minoritarios en el extracto contribuyen de manera importante a la actividad antioxidante, así como a la existencia de interacciones entre los compuestos fenólicos que afectan la actividad antioxidante total.

La actividad antioxidante también fue evaluada usando concentraciones equimolares (50 $\mu\text{mol/L}$) de cada compuesto (Cuadro 11). Bajo estas condiciones, el orden de la actividad antioxidante fue isoramnetina > quercetina > ácido gálico > miricetina > catequina > ácido sinápico para ABTS, ácido sinápico > ácido gálico > quercetina > miricetina > catequina > isoramnetina para DPPH, y ácido gálico > quercetina > isoramnetina > miricetina > catequina > ácido sinápico por FRAP.

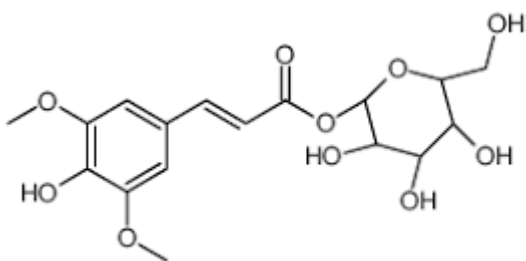
Cuadro 11. Actividad antioxidante de estándares de compuestos fenólicos evaluados a la concentración encontrada en el extracto metanólico de ICC 4418 y 50 µM

Compuesto	ABTS		DPPH		FRAP	
	Extracto ¹	50 µM	Extracto ¹	50 µM	Extracto ¹	50 µM
Ácido Sinápico ² (715.7 µmol/L)	1047.1 ± 44.5	66.2 ± 5.6	5953.5 ± 268.8	416.3 ± 18.6	972.1 ± 5.3	102.8 ± 19.2
Ácido gálico (531.6 µmol/L)	3952.6 ± 95.8	392.6 ± 4.9	3670.3 ± 63.3	331.2 ± 8.3	3057.4 ± 41.2	334.7 ± 11.6
Isoramnetina (156.3 µmol/L)	788.6 ± 2.6	414.9 ± 6.1	316.7 ± 8.0	102.6 ± 5.2	344.1 ± 2.8	210.5 ± 3.8
Catequina (142.6 µmol/L)	1083.1 ± 19.2	323.0 ± 4.8	379.1 ± 7.5	140.0 ± 5.4	290.3 ± 3.5	145.9 ± 7.4
Miricetina (64.3 µmol/L)	456.8 ± 9.4	346.7 ± 4.7	201.9 ± 6.1	177.4 ± 5.8	243.2 ± 6.3	182.3 ± 6.0
Quercetina (44.5 µmol/L)	397.1 ± 6.0	410.9 ± 5.3	204.9 ± 6.1	226.1 ± 6.4	259.5 ± 4.0	279.3 ± 7.7

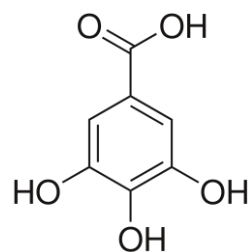
¹Compuestos individuales evaluados a la concentración del extracto indicada entre paréntesis. ²Aglicona de ácido sinápico hexósido.
ET= Equivalentes de Trolox.

Zhang y col (2011) evaluaron la actividad antioxidante de distintos flavonoides con los mismos ensayos y encontraron resultados similares.

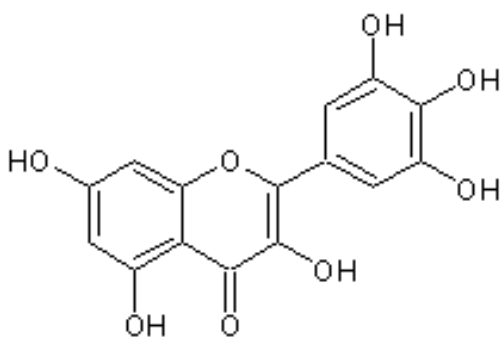
La inactivación directa de radicales por compuestos antioxidantes ha sido asociada principalmente con dos mecanismos, transferencia de átomos de hidrógeno y transferencia de electrones. Estos mecanismos también pueden ocurrir de manera paralela o secuencial, y el dominante será determinado principalmente por la estructura (Figura 11) y propiedades del antioxidante (Prior y col 2005). En flavonoides la presencia del grupo *orto*-dihidroxi (catecol) en el anillo B parece ser esencial para una alta actividad, mientras que la presencia de la molécula pirogalol o el grupo metoxilo en una posición inmediata a un hidroxilo disminuye la actividad antioxidante (Zhang y col 2011). Esto corresponde con el orden de actividad antioxidante observado para los flavonoides por DPPH (Cuadro 11). Otras estructuras que contribuyen a la actividad antioxidante en flavonoides son el doble enlace entre los carbonos 2 y 3 en conjugación con el grupo 4-oxo y la presencia de los grupos hidroxilo en las posiciones 3 y 5 (Martinez-Flores y col 2002; Li y col 2008; Hidalgo y col 2010). Para FRAP, el potencial de ionización (PI) es un buen descriptor y el orden de los flavonoides del valor más bajo al más alto de PI es quercetina, isoramnetina, miricetina y catequina (Zhang y col 2011), el cual es el mismo observado para la actividad antioxidante en este ensayo. En ABTS, la inactivación del radical parece involucrar mecanismos de reacción complejos, ya que la actividad antioxidante de los compuestos no mostró relación con sus estructuras o propiedades.



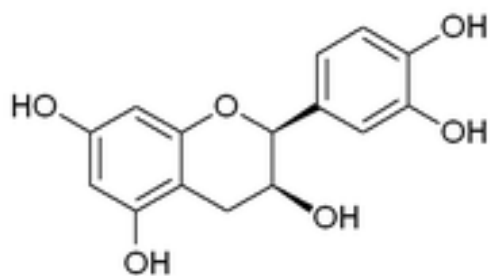
Ácido sinápico hexósido



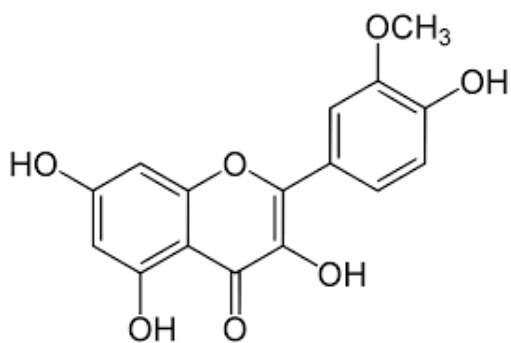
Ácido gálico



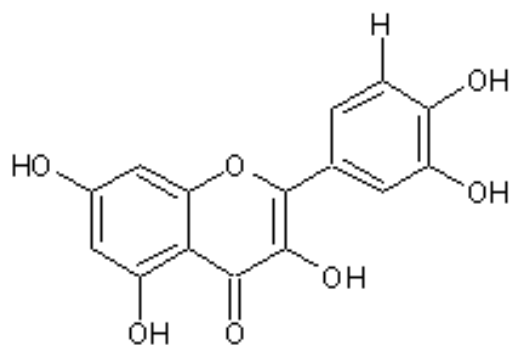
Miricetina



Catequina



Isoramnetina



Quercetina

Figura 11. Estructuras de los principales compuestos fenólicos identificados en los extractos metanólicos de garbanzo.

El poder antioxidante también depende de la naturaleza del radical y su mecanismo de reacción específico, los cuales son influenciados por la presencia de grupos glucosilados, el número y posición de grupos hidroxilo y metoxilo, así como las reacciones que provocan cambios estructurales. En este sentido, el resultado final de la eficacia antioxidante de flavonoides es determinado por una combinación de todos estos elementos estructurales los cuales parecen influir en las interacciones de los compuestos cuando se ensayan en mezclas complejas (Hidalgo y col 2010).

Dos de los principales compuestos seleccionados (Figura 11) son ácidos fenólicos (ácido gálico y ácido sinápico). El ácido sinápico posee un anillo benzoico con un grupo hidroxilo en la posición *para*- y dos grupos metoxilo en las posiciones *meta*-; mientras que el ácido gálico presenta un anillo benzoico con tres grupos hidroxilo y un grupo carboxilo. La actividad antioxidante aumenta con el número de grupos hidroxilo y en el caso de los ácidos fenólicos la presencia del grupo catecol les permite estabilizarse mediante la formación de O-quinonas (Peyrat-Maillard y col 2003), lo que cual corresponde con la mayor actividad antioxidante del ácido gálico por los métodos ABTS y FRAP cuando los compuestos se evaluaron a concentraciones equimolares (Cuadro 11).

VIII CONCLUSIONES

- Los genotipos de garbanzo mostraron una amplia variabilidad en el contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante, lo cual refleja su gran diversidad genética.
- La actividad antioxidante de los genotipos de garbanzo tipo desi con granos pigmentados fue significativamente mayor que la de los genotipos kabuli.
- Se identificaron un total de veinte compuestos fenólicos, siendo los ácidos fenólicos y los flavonoides los más abundantes en los genotipos tipo kabuli y desi, respectivamente.
- La actividad antioxidante de los genotipos de garbanzo parece estar asociada principalmente con el contenido de los ácidos fenólicos sinápico hexósido y gálico, así como de los flavonoides miricetina, quercetina, catequina e isoramnetina.
- Algunos genotipos mostraron contenidos altos de flavonoides (ICC 4418, ICC 6306, ICC 3761) y ácidos fenólicos (Surutato 77, Bco. Sin. 92 y Blanoro), por lo que representan una buena fuente de antioxidantes para ser incluidos en programas de mejoramiento para el desarrollo de garbanzo con propiedades nutracéuticas mejoradas.

IX BIBLIOGRAFÍA

- Abad-García B, Berrueta LA, Garmón-Lobato S, Gallo B, Vicente F. 2009. A general analytical strategy for the characterization of phenolic compounds in fruit juices by high-performance liquid chromatography with diode array detection coupled to electrospray ionization and triple quadrupole mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1216:5398-5415.
- Adebamowo CA, Cho E, Sampson L, Katan MB, Spiegelman D, Willett WC, Holmes MD. 2005. Dietary flavonols and flavonol-rich foods intake and the risk of breast cancer. *International Journal of Cancer* 114:628-633.
- Ademiluyia AO, Oboh G. 2013. Soybean phenolic-rich extracts inhibit key-enzymes linked to type 2 diabetes (α -amylase and α -glucosidase) and hypertension (angiotensin I converting enzyme) *in vitro*. *Experimental and Toxicologic Pathology* 65:305-309.
- Aguilar-Raymundo VG, Vélez-Ruiz JF. 2013. Propiedades nutricionales y funcionales del garbanzo (*Cicer arietinum* L.). *Temas Selectos De Ingeniería De Alimentos* 7(2):25-34.
- Aguilera Y, Dueñas M, Estrella I, Hernández T, Benitez V, Esteban RM, Martín-Cabrejas. 2011. Phenolic profile and antioxidant capacity of chickpeas (*Cicer arietinum* L.) as affected by a dehydration process. *Plant Foods for Human Nutrition* 66:187-195.
- Alshikh N, Costa de Camargo A, Shahidi F. 2015. Phenolics of selected lentil cultivars: antioxidant activities and inhibition of low-density lipoprotein and DNA damage. *Journal of Functional Foods* 18:1022-1038.
- Amarowicz R, Estrella I, Hernandez T, Duenas M, Troszynska A, Kosinska A, Pegg RB. 2009. Antioxidant activity of a red lentil extract and its fractions. *International Journal of Molecular Science* 10:5513–5527.
- Amarowicz R, Estrella I, Hernández T, Robredo S, Troszynska A, Kosinska A, Pegg RB. 2010. Free radical-scavenging capacity, antioxidant activity, and phenolic composition of green lentil (*Lens culinaris*). *Food Chemistry* 121:705-711.

- ASERCA. Apoyos y Servicios a la Comercialización Agropecuaria. 1997. Revista Claridades Agropecuarias. Disponible en: <http://www.infoaserca.gob.mx/claridades/marcos.asp?numero=42>
- Ashokkumar K, Tar'an B, Diapari M, Arganosa G, Warkentin TD. 2014. Effect of cultivar and environment on carotenoid profile of pea and chickpea. *Crop Science* 54:2225-2235.
- Ashokkumar K, Diapari M, Jha AB, Tar'an B, Arganosa G, Warkentin TD. 2015. Genetic diversity of nutritionally important carotenoids in 94 pea and 121 chickpea accessions. *Journal of Food Composition and Analysis* 43:49-60.
- Benzie IFF, Strain JJ. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry* 239:70-76.
- Blasiak J, Petrovski G, Veréb Z, Facskó A, Kaarniranta K. 2014. Oxidative stress, hypoxia, and autophagy in the neovascular processes of age-related macular degeneration. *BioMed Research International* 2014:1-7.
- Boschin G, Arnoldi A. 2011. Legumes are valuable sources of tocopherols. *Food Chemistry* 127:1199-1203.
- Bovy A, Schijlen E, Hall RD. 2007. Metabolic engineering of flavonoids in tomato (*Solanum lycopersicum*): the potential for metabolomics. *Metabolomics* 3:399-412.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT – Food and Science Technology* 28:25-30.
- Campos-Vega R, Loarca-Piña G, Oomah BD. 2010. Minor components of pulses and their potential impact on human health. *Food Research International* 43:461-482.
- Casey R, Domoney C, Smith AM. 1993. Biochemistry and molecular biology of seed products. En: Casey R, Davies DR, editores. *Peas: Genetics, molecular biology and biotechnology*. Wallingford: CAB International. p. 121-164.

- Chavan JK, Kadam SS, Salunkhe DK, Beuchat LR. 1987. Biochemistry and technology of chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 25(2):107-158.
- Chavan JK, Kadam SS, Salunkhe DK. 1989. Chickpea. En Salunkhe DK, Kadam SS, editores. *Handbook of world food legumes: nutritional chemistry, processing technology and utilization*. Vol I. Boca Raton, Florida: CRC Press, Inc. p. 247-288.
- Chen H, Ma H, Gao Y, Zhang X, Habasi M, Hu R, Aisa HA. 2015. Isoflavones extracted from chickpea *Cicer arietinum* L. sprouts induce mitochondria-dependent apoptosis in human breast cancer cells. *Phytotherapy Research*, 29:210-219.
- Cheyrier V, Comte G, Davies KM, Lattanzio V, Martens S. 2013. Plant phenolics: recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. *Plant Physiology and Biochemistry* 72:1-20.
- Circu ML, Aw TY. 2010. Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis. *Free Radical Biology & Medicine* 48:749-762.
- Cotelle N. 2001. Role of flavonoids in oxidative stress. *Current Topics in Medicinal Chemistry* 1:569-590.
- Crispín MA, López GH. 1976. El garbanzo: Un cultivo importante en México. CEVACU, CIFAP-SIN, SARH. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. Culiacán, Sinaloa, México. Folleto No. 58.
- Crozier A, Jaganath IB, Clifford MN. 2006. Phenols, Polyphenols and tannins: an overview. En: Crozier A, Clifford MN, Ashihara H, editores. *Plant Secondary Metabolites Occurrence, Structure and Role in the Human Diet*. Australia: Blackwell publishing. p 1-24.
- Cubero JI. 1987. Morphology of chickpea En: Saxena MC, Singh KB, editores. *The Chickpea*. Wallingford, Oxon: CAB, International. p 35-75.
- De Villiers A, Venter P, Pasch H. 2016. Recent advances and trends in the liquid-chromatography-mass spectrometry analysis of flavonoids. *Journal of Chromatography A*, 1430:16-78.

- Dueñas J, Estrella I, Hernández T. 2004. Occurrence of phenolic compounds in the seed coat and the cotyledon of peas (*Pisum sativum* L.). European Food Research and Technology 219:116-123.
- Dueñas M, Hernández T, Estrella I. 2006. Assessment of *in vitro* antioxidant capacity of the seed coat and the cotyledon of legumes in relation to their phenolic contents. Food Chemistry 98:95-103.
- FAOSTAT. 2017. Food Agriculture Organization. Database FAOSTAT. Disponible en: <http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/S>. Consultado en Diciembre de 2017.
- Faria A, Persaud SJ. Cardiac oxidative stress in diabetes: mechanisms and therapeutic potential. Pharmacology & Therapeutics 172:50-62.
- Fратиanni F, Cardinale F, Cozzolino A, Granese T, Albanese D, Di Matteo M, Zaccardelli M, Coppola R, Nazzaro F. 2014. Polyphenol composition and antioxidant activity of different grass pea (*Lathyrus sativus*), lentils (*Lens culinaris*), and chickpea (*Cicer arietinum*) ecotypes of the Campania region (Southern Italy). Journal of Functional Foods 7:551-557.
- Gao Y, Yao Y, Zhu Y, Ren G. 2015. Isoflavones in chickpeas inhibit adipocyte differentiation and prevent insulin resistance in 3T3-L1 cells. Journal of Agricultural and Food Chemistry 63:9696-9703.
- Garzón-Tiznado JA, Heiras-Palazuelos MJ, Espinoza-Moreno RJ, Cano-Campos M, Delgado-Vargas F, Gutiérrez-Dorado R, Milán-Carrillo J, Reyes-Moreno C. 2013. Antioxidant and antimutagenic activities of optimized extruded desi chickpea (*Cicer arietinum* L.) flours. Journal of Pharmacy and Nutrition Sciences 3:38-47.
- Ghasemzadeh A, Ghasemzadeh N. 2011. Flavonoids and phenolic acids: role and biochemical activity in plants and human. Journal of Medicinal Plants Research 5(31):6697-6703.
- Gómez GRM. 1990. Mocerito-88: Nueva variedad de garbanzo blanco para Sinaloa. CIRNO-NOROESTE, Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas y Pecuaria (INIFAP) Valle de Culiacán, Folleto Técnico No. 12, abril 1990, pp. 1-8.

- Halliwel B. 1997. Antioxidants and human disease: a general introduction. *Nutrition Reviews* 55:S44-9.
- Han H, Baik B. 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* 43:1971-1978.
- Heiras-Palazuelos MJ, Ochoa-Lugo MI, Gutiérrez-Dorado R, López-Valenzuela JA, Mora-Rochín S, Milán-Carrillo J, Garzón-Tiznado JA, Reyes-Moreno C. 2013. Technological properties, antioxidant activity and total phenolic and flavonoid content of pigmented chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 64(1):69-76.
- Hidalgo M, Sánchez-Moreno C, de Pascual-Teresa S. 2010. Flavonoid–flavonoid interaction and its effect on their antioxidant activity. *Food Chemistry* 121:691-696.
- Hirdyani H. 2014. Nutritional composition of chickpea (*Cicer arietinum* L.) and value added products. *Indian Journal of Community Health* 26(02):102-106.
- Hithamani G, Srinivasan K. 2014. Bioaccessibility of Polyphenols from wheat (*Triticum aestivum*), sorghum (*Sorghum bicolor*), green gram (*Vigna radiata*), and chickpea (*Cicer arietinum*) as influenced by domestic food processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62:11170-11179.
- IBPGR, ICRISAT y ICARDA. 1993. Descriptors for chickpea (*Cicer arietinum* L.). International Board for Plant Genetic Resources, Roma, Italia; International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, Patancheru, India y International Center for Agricultural Research in the Dry Areas, Aleppo, Siria.
- ICRISAT. 1980. Proceedings of the International Workshop on Chickpea Improvement. Hyderabad, A.P., India. (disponible en: <http://oar.icrisat.org/764/>).
- ICRISAT. 2017. Instituto de investigación de Cosechas internacional para Zona tropical Semiárida. Fecha de consulta: 03 de agosto de 2017. Disponible en: www.icrisat.org.

- Jukanti AK, Gaur PM, Gowda CLL, Chibbar RN. 2012. Nutritional quality and health benefits of chickpea (*Cicer arietinum* L.): a review. *British Journal of Nutrition* 108:S11–S26.
- Kalogeropoulos N, Chiou A, Ioannou M, Karathanos VT, Hassapidou M, Andrikopoulos NK. 2010. Nutritional evaluation and bioactive microconstituents (phytosterols, tocopherols, polyphenols, triterpenic acids) in cooked dry legumes usually consumed in the Mediterranean countries. *Food Chemistry* 121:682-690.
- Kerem Z, Lev-Yadun S, Gopher A, Weinberg P, Abbo S. 2007. Chickpea domestication in the neolithic levant through the nutritional perspective. *Journal of Archaeological Science* 34:1289-1293.
- Knekt P, Jävinen R, Seppänen R, Heliövaara M, Teppo L, Pukkala E, Aromaa A. 1997. Dietary flavonoids and the risk of lung cancer and other malignant neoplasms. *American Journal of Epidemiology* 146(3):223-230.
- Knights EJ, Wood JA, Harden S. 2011. A gene influencing seed shape of desi type chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Plant Breeding* 130:278-280.
- Konar N, Poyrazoğlu ES, Demir K, Artik N. 2012. Determination of conjugated and free isoflavones in some legumes by LC–MS/MS. *Journal of Food Composition and Analysis* 25(2):173-178.
- Ladizinsky G, Adler A. 1976. The origin of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Euphytica* 25:211-217.
- Ladizinsky G. 1995. Chickpea. En: Smartt J, Simmonds NW, editores. *Evolution of Crop Plants*. Harlow: Logman Scientific and Technical. p 258-261.
- Lásztity R. 1996. Oat proteins. En: Lásztity R, editor. *The Chemistry of Cereal Proteins*. 2^a edición. Boca Raton, Florida: CRC Press: p 275-294.
- Lee J, Koo N, Min DB. 2004. Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 3:21-33.

- Leong LP, Shui G. 2002. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chemistry* 76:69-75.
- Li N, Liu JH, Zhang J, Yu BY. 2008. Comparative evaluation of cytotoxicity and antioxidative activity of 20 flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56:3876-3883.
- Liu S, Hou W, Yao P, Zhang B, Sun S, Nüssler AK, Liu L. 2010. Quercetin protects against ethanol-induced oxidative damage in rat primary hepatocytes. *Toxicology in Vitro* 24:516-522.
- Magalhães SC, Taveira M, Cabrita AR, Fonseca AJ, Valentão P, Andrade PB. 2017. European marketable grain legume seeds: further insight into phenolic compounds profiles. *Food Chemistry* 215:177-184.
- Marathe SA, Rajalakshmi V, Jamdar SN, Sharma A. 2011. Comparative study on antioxidant activity of different varieties of commonly consumed legumes in India. *Food and Chemical Toxicology* 49:2005-2012.
- Martín MA, Ramos S. 2016. Cocoa polyphenols in oxidative stress: potential health implications. *Journal of Functional Foods* 27:570-588.
- Martínez-Flórez S, González-Gallego J, Culebras JM, Tuñón MJ. 2002. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria* 17(6):271-278.
- Mazur WM, Duke JA, Wähälä K, Rasku S, Adlercreutz H. 1998. Isoflavonoids and lignans in legumes: nutritional and health aspects in humans. *Journal of Nutritional Biochemistry* 9:193-200.
- Mekky RH, del Mar Contreras M, El-Gindi MR, Abdel-Monem AR, Abdel-Sattar E, Segura-Carretero A. 2015. Profiling of phenolic and other compounds from Egyptian cultivars of chickpea (*Cicer arietinum* L.) and antioxidant activity: a comparative study. *RSC Advances* 5:17751-17767.
- Miao M, Zhang T, Jiang B. 2009. Characterisations of kabuli and desi chickpea starches cultivated in China. *Food Chemistry* 113:1025-1032.

- Mojica L, Meyer A, Berhow MA, González de Mejía E. 2015. Bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.) have similar high antioxidant capacity, in vitro inhibition of α -amylase and α -glucosidase while diverse phenolic composition and concentration. *Food Research International* 69:38-48.
- Morton LW, Caccetta RA, Puddey IB, Croft KD. 2000. Chemistry and biological effects of dietary phenolic compounds: Relevance to cardiovascular disease. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 27(3):152-159.
- Parmar N, Singh N, Kaur A, Viridi AS, Thakur S. 2016. Effect of canning on color, protein and phenolic profile of grains from kidney bean, field pea and chickpea. *Food Research International* 89:526-532.
- Peyrat-Maillard MN, Cuvelier ME, Berset C. 2003. Antioxidant activity of phenolic compounds in 2,2'-Azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH)-induced oxidation: synergistic and antagonistic effects. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 80(10):1007-1012.
- Pittaway J. 2006. Chickpeas and human health: The effect of chickpea consumption on some physiological and metabolic parameters. [Tesis de Maestría en Ciencias Biomédicas]. Universidad de Tasmania, Australia.
- Prior RL, Wu XL, 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 (10):4290-4302
- Quideau S, Deffieux D, Douat-Casassus C, Pouységu L. 2011. Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis, *Angewandte Chemie International Edition* 50:586-621.
- Quintero-Soto MF. 2015. Identificación de marcadores moleculares asociados al contenido de proteínas, almidón y fitoquímicos en genotipos de garbanzo (*Cicer arietinum* L.).[Tesis de Maestría]. Culiacán, Sinaloa: Universidad Autónoma de Sinaloa. 131 p.

- Ranilla LG, Genovese MI, Lajolo FM. 2007. Poly-phenols and antioxidant capacity of seed coat and cotyledon from brazilian and peruvian bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry 55(1):90-98.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay. Free Radical Biology & Medicine 26:1231-1237.
- Redden R, Berger JD. 2007. History and origin of chickpea. En: Yadav SS, Redden R, Chen W, Sharma B, eds. Chickpea breeding and management. Wallingford: CABI, 1-13.
- Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. Free Radical Biology & Medicine 20(7):933-956.
- Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends in plant science 2(4):152-159.
- Rochfort S, Panozzo J. 2007. Phytochemicals for Health, the Role of Pulses. Journal of Agricultural and Food Chemistry 55:7981-7994.
- Salinas PRA, Cortez ME, Macias CJ. 2008. Guía para producir garbanzo en el norte de Sinaloa. INIFAP-CIRNO. Campo Experimental Valle del Fuerte. Folleto Técnico No. 29. Los Mochis, Sinaloa, México. 44 p.
- Sánchez-Vioque R, Clemente A, Vioque J, Bautista J, Millán F. 1999. Protein isolates from chickpea (*Cicer arietinum* L.): Chemical composition, functional properties and protein characterization. Food Chemistry 64(2): 237-243.
- Sastry DVSSR, Upadhyaya HD, Gowda CLL. 2014. Determination of physical properties of chickpea seeds and their relevance in germplasm collections. Indian Journal of Plant Genetic Resources 27(1):1-9.
- Segev A, Badani H, Kapulnik Y, Shomer I, Oren-Shamir M, Galili S. 2010. Determination of polyphenols, flavonoids, and antioxidant capacity in colored chickpea (*Cicer arietinum* L.). Journal of Food Science 75(2):S115-S119.

- Segev A, Badani H, Galili L, Hovav R, Kapulnik Y, Shomer I, Galili S. 2011. Total phenolic content and antioxidant activity of chickpea (*Cicer arietinum* L.) as affected by soaking and cooking conditions. Food and Nutrition Sciences 2:724-730.
- SIAP-SAGARPA. 2017. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola, México. Disponible en: <http://www.siap.sagarpa.gob.mx> . Consultado en Diciembre de 2017.
- Singh B, Singh JP, Kaur A, Singh N. 2017. Phenolic composition and antioxidant potential of grain legume seeds: A review. Food Research International 101:1-16.
- Singh KB, Ocampo B. 1997. Exploitation of wild *Cicer* species for yield improvement in chickpea. Wallingford: CAB International. 127-162 p.
- Singh R, Sharma P, Varshey RK, Sharma SK, Singh NK. 2008. Chickpea improvement: role of wild species and genetic markers. Biotechnology and Genetic Engineering Reviews 25:267-314.
- Singh U. 1985. Nutritional quality of chickpea (*Cicer arietinum* L.): current status and future research needs. Plant Foods Human Nutrition 35:339-35.
- Singh U, Jambunathan R. 1982. Distribution of seed protein fractions and amino acid in different anatomical parts of chickpea (*Cicer arietinum* L.) and pigeon pea (*Cajanus cajan* L.). Plant Foods for Human Nutrition 32:347-54.
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. Methods in Enzymology 299:152-178.
- Sreerama YN, Sashikala VB, Pratape VM. 2010. Variability in the distribution of phenolic compounds in milled fractions of chickpea and horse gram: evaluation of their antioxidant properties. Journal of Agricultural Food Chemistry 58:8322-8330.
- Sreerama YN, Sashikala VB, Pratape VM. 2012. Phenolic compounds in cowpea and horse gram flours in comparison to chickpea flour: evaluation of their antioxidant

- and enzyme inhibitory properties associated with hyperglycemia and hypertension. *Food Chemistry* 133:156-162.
- Stanisavljević NS, Ilić M, Jovanović ŽS, Čupić T, Dabić DČ, Natić MM, Tešić ŽL, Radović SS. 2015. Identification of seed coat phenolic compounds from differently colored pea varieties and characterization of their antioxidant activity. *Archives of Biological Sciences* 67(3):829-840.
- Stanley DW, Aguilera JM. 1985. A review of textural defects in cooked reconstituted legumes. The influence of structure and composition. *Journal of Food Biochemistry* 9:277-323.
- Tanno K, Willcox G. 2006. The origins of cultivation of *Cicer arietinum* L. and *Vicia faba* L.: early finds from Tell el-Kerkh, north-west Syria, late 10th millennium B.P. *Vegetation History and Archaeobotany* 15:197-204.
- Taylor PWJ, Ford R. 2007. Chickpea. En: Kole C, editor. *Genome mapping and molecular and molecular breeding in plants, Volumen 3. Pulses, Sugar and Tuber Crops*. Berlin: Springer. p 109-118.
- Tiwari AK, Sahana C, Zehra A, Madhusudana K, Kumar DA, Agawane SB. 2013. Mitigation of starch-induced postprandial glycemic spikes in rats by antioxidants-rich extract of *Cicer arietinum* Linn. seeds and sprouts. *Journal of pharmacy & bioallied sciences* 5(4):270-276.
- Valenzuela-Herrera V, Manjarrez-Sandoval P, Morales-Gómez A, Salinas-Pérez RA, Gómez-Gómez L, Fierros-Leyva GA, Ortega-Murrieta PF, Padilla-Valenzuela I, Ramírez-Soto M, Acosta-Gallegos JA, Gutiérrez-Pérez E, Velarde-Félix S, Fuentes-Dávila G. 2016. “Jumbo 2010”, cultivar of chickpea “kabuli” type of extra large size from Sinaloa, Mexico. *Global Advanced Research Journal of Agricultural Science* 5(7):277-282.
- Varma Penmetsa R, Carrasquilla-Garcia N, Bergmann EM, Vance L, Castro B, Kassa MT, Sarma BK, Datta S, Farmer AD, Baek J, Coyne CJ, Varshney RK, Wettberg EJB, Cook DR. 2016. Multiple post-domestication origins of kabuli chickpea

- through allelic variation in a diversification-associated transcription factor. *New Phytologist* 211(4):1440-1451.
- Vioque J, Sánchez-Vioque R, Clemente A, Pedroche J, Bautista J, Millán F. 1999. Purification and partial characterization of chickpea 2S albumin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47:1404-1409.
- Wang J, Yang X, Zhang J. 2016a. Bridges between mitochondrial oxidative stress, ER stress and mTOR signaling in pancreatic β cells. *Cellular Signalling* 28:1099-1104.
- Wang YK, Zhang X, Chen GL, Yu J, Yang LQ, Gao YQ. 2016b. Antioxidant property and their free, soluble conjugate and insoluble-bound phenolic contents in selected beans. *Journal of Functional Foods* 24:359-372.
- Wood JA, Grusak MA. 2007. Nutritional value of chickpea. En: Yadav SS, Redden RJ, Chen W, Sharma B, editores. *Chickpea Breeding and Management*. Cambridge: CAB International. p 101-142.
- Wood JA, Knights EJ, Choct M. 2011. Morphology of chickpea seeds (*Cicer arietinum* L.): comparison of desi and kabuli types. *International Journal of Plant Science* 172(5):632-643.
- Wu Z, Song L, Feng S, Liu Y, He G, Yioe Y, Liu SQ, Huang D. 2012. Germination dramatically increases isoflavonoid content and diversity in chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60(35):8606-8615.
- Xiao Y, Xing G, Rui X, Li W, Chen X, Jiang M, Dong M. 2014. Enhancement of the antioxidant capacity of chickpeas by solid state fermentation with *Cordyceps militaris* SN-18. *Journal of Functional Foods* 10:210-222.
- Xu B, Chang SKC. 2009. Phytochemical profiles and health-promoting effects of cool-season food legumes as influenced by thermal processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57:10718-10731.
- Yan LJ. 2014. Positive oxidative stress in aging and aging-related disease tolerance. *Redox Biology* 2:165-169.

- Zhang B, Deng Z, Ramdath DD, Tang Y, Chen PX, Liu R, Liu Q, Tsao R. 2015. Phenolic profiles of 20 Canadian lentil cultivars and their contribution to antioxidant activity and inhibitory effects on α -glucosidase and pancreatic lipase. *Food chemistry* 172:862-872.
- Zhang D, Chu L, Liu Y, Wang A, Ji B, Wu W, Zhou F, Wei Y, Cheng Q, Cai S, Xie L, Jia G. 2011. Analysis of the antioxidant capacities of flavonoids under different spectrophotometric assays using cyclic voltammetry and density functional theory. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59 (18):10277-10285.
- Zhao Y, Du S, Wang H, Cai M. 2014. *In vitro* antioxidant activity of extracts from common legumes. *Food Chemistry* 152:462-466.
- Zia-UI-Haq M, Iqbal S, Ahmad S, Imran M, Niaz A, Bhanger MI. 2007. Nutritional and compositional study of Desi chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars grown in Punjab, Pakistan. *Food Chemistry* 105:1357-1363.
- Zia-UI-Haq M, Iqbal S, Ahmad S, Bhanger MI, Wiczowski W, Amarowicz R. 2008. Antioxidant Potential of Desi Chickpea Varieties Commonly Consumed in Pakistan. *Journal of Food Lipids* 15:326-342.
- Zohary D, Hopf M. 2000. Domestication of plants in the old world. Tercera edición. Oxford: Clarendon Press. 328 p.
- Zohary D, Hopf M, Weiss E. 2012. Domestication of plants in the Old World: the origin and spread of domesticated plants in Southwest Asia, Europe, and the Mediterranean Basin. Cuarta edición. Oxford: Oxford University Press. 280 p.

ABREVIATURAS

%	Por ciento
μ	Micro
a.c.	Antes de Cristo
ABTS	2,2'-azinobis(ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)
bs	Base seca
C	Carbono
CEVACU	Campo Experimental del Valle de Culiacán
CO ₂	Dióxido de Carbono
CoA	Coenzima A
Col	Colaboradores
DAD	Detector de Arreglo de Diodos
DPPH	2, 2-difenil-1-picrilhidrazil
FeCl ₃	Cloruro Férrico
FRAP	Ensayo del Poder de Reducción/Antioxidante Férrico
GAE	Equivalentes de Ácido Gálico
H ₂ O	Agua
HCl	Ácido Clorhídrico
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
ICRISAT	Instituto Internacional de Investigación de Cultivos para Zonas Tropicales y Semiáridas
INIFAP	Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias
kDa	Kilo Dalton
LDL	Lipoproteína de Baja Densidad
M	Molar
<i>m/z</i>	Relación masa sobre carga
Min	Minutos
Mol	Moles
MS	Espectrometría de Masas
N	Nitrógeno

P	Fósforo
PCA	Análisis de Componentes Principales
ROS	Especies Reactivas de Oxígeno
SIAP	Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera
SAGARPA	Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación
ET	Equivalentes de Trolox
TEAC	Capacidad Antioxidante en Equivalentes de Trolox
ton	Toneladas
TPTZ	2,4,6-tripiridil-s-triazina
UPLC	Cromatografía líquida de ultra-alta resolución
UV	Ultra-Violeta