

Efecto del tiempo de hidrólisis enzimática en garbanzo (*Cicer arietinum* L.) Desi rojo subutilizado selenizado sobre la liberación de compuestos antioxidantes

Effect of enzymatic hydrolysis time on the release of antioxidant compounds in underutilized selenized red Desi chickpea (*Cicer arietinum* L.)

A. Keila Milán-Noris^{1,2*}, Esmeralda Mascareño-Montoya^{1,2}, Evelia M. Milán-Noris^{1,2}, Eslim S. Sandoval-Sicairos¹, Álvaro Montoya-Rodríguez^{1,2}, Daniela Guardado-Félix¹

¹ Laboratorio de Nutraceuticos (18), Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Blv. de las Américas y Josefa Ortiz de Domínguez, S/N, Culiacán Sinaloa México.

² Posgrado en Ciencias de la Nutrición y Alimentos Medicinales, Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Ciencias de la Nutrición y Gastronomía, Av. Cedros S/N, Culiacán, Sinaloa México

*Autora de correspondencia: keilamilan@uas.edu.mx

Resumen

Palabras clave:

germinación, selenio, garbanzo, compuestos bioactivos, hidrólisis enzimática.

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la germinación en presencia de selenito de sodio y la hidrólisis enzimática (pepsina + pancreatina) sobre el contenido y la bioaccesibilidad de compuestos nutraceuticos en garbanzo Desi rojo subutilizado. El garbanzo rojo se germinó sin (germinado) y con selenio (2 mg selenito de sodio/100 g; selenizado) por 5 días a 24 °C/80% humedad relativa. Las muestras se hidrolizaron con pepsina 2h + pancreatina 2h y se tomaron alícuotas a diferentes tiempos. Las muestras hidrolizadas y sin hidrolizar se les determinó el perfil de proteínas, proteína soluble (PS), compuestos fenólicos totales (CFT) y potencial antioxidante. El garbanzo selenizado acumuló más del 90 % de selenio. La hidrólisis enzimática de garbanzo germinado y selenizado incrementó (400%) PS, (15 veces) CFT y (2 veces) potencial antioxidante comparado con su contraparte sin hidrolizar. A pesar de que no se encontró un efecto en los nutraceuticos por la biofortificación con selenio. Nuestros resultados muestran que la combinación de la germinación con hidrólisis enzimática genera ingredientes funcionales con potencial para el tratamiento de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo.

Abstract

Keywords:

germination, selenium, chickpea, bioactive compounds, enzymatic hydrolysis.

This study aimed to determine the effect of germination with selenium and the enzymatic hydrolysis (pepsin + pancreatin) on the content and bioaccessibility of nutraceuticals in underutilized red Desi chickpea. Chickpea seeds were germinated non-selenium (germinated) and selenium (2 mg sodium selenite/100 g; selenized) for 5 days at 24 °C/80% relative humidity. The samples were hydrolyzed with pepsin 2h + pancreatin 2h, then aliquots were collected at different intervals. The hydrolyzed and non-hydrolyzed samples were assayed for protein profile, soluble protein (SP), total phenolic compounds (TPC), and antioxidant potential. Selenized chickpea accumulates up to 90% of Selenium. The enzymatic hydrolysis of germinated and selenized chickpea increased (400%) SP, (15-fold) TPC, and (2-fold) antioxidant potential compared with its counterparts, non-hydrolyzed. Although selenium biofortification did not significantly influence the nutraceutical content, the results herein showed that the combination of germination and enzymatic hydrolysis produces potential functional ingredients for oxidative stress-related diseases.

Recibido: 22 de octubre 2025
Revisado: 24 de noviembre 2025
Aceptado: 30 de diciembre 2025
Publicado: 23 de febrero 2026



Este artículo es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos y condiciones de la licencia CC BY-NC-SA 4.0. Para ver una copia de esta licencia visite <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>



Introducción

Las leguminosas son un alimento económico, rico en nutrientes y compuestos bioactivos. El consumo de leguminosas ha sido relacionado con la prevención y disminución de enfermedades crónico-degenerativas relacionadas al estrés oxidativo como cáncer, diabetes mellitus, obesidad, aterosclerosis, por mencionar algunas (Mehany et al., 2025). Dentro de estos granos se encuentra el garbanzo, el cual su consumo ha aumentado en los últimos años, por su contenido de compuestos bioactivos con efecto positivo en la salud o por dietas basadas en proteínas de plantas (Gupta et al., 2017; Aravind K Jukanti et al., 2012).

Por otra parte, el garbanzo se clasifica en dos tipos de granos: Desi (nativo de la India) de testa gruesa con pigmentaciones café, rojo, negro o verde y Kabuli (Nativo del Mediterráneo) de testa delgada con coloración blanco o crema (Chavan et al., 1987; A. K. Jukanti et al., 2012). El garbanzo Desi se puede considerar un grano subutilizado o marginado, ya que América y Europa no se consumen a pesar de su potencial nutricional y nutracéutico. Este grano se emplea principalmente para la alimentación de animales, debido a las dificultades de su procesamiento por el rico contenido de fibra (Raza et al., 2019). Sin embargo, el garbanzo Desi pigmentado contiene un mayor contenido de fitoquímicos y capacidad antioxidante, así como mejor calidad proteica que granos no pigmentados (Garzon-Tiznado et al., 2013; Heiras-Palazuelos et al., 2013; Milán-Noris et al., 2019; Quintero-Soto et al., 2018). Asimismo, el procesamiento de este grano mejora la bioaccesibilidad de los fitoquímicos (Garzon-Tiznado et al., 2013; Milán-Noris et al., 2023).

El selenio es un micronutriente esencial para la nutrición humana y animal, actúa como cofactor en enzimas del sistema antioxidante (glutación peroxidasa y tiorredoxina reductasa). Se recomienda una ingesta diaria de 50 µg, mientras que el consumo de dosis supranutricionales (200 µg/día) se ha asociado con una reducción del riesgo de cáncer (Hu et al., 2008; Sanmartin et al., 2012). La biofortificación de selenio durante el proceso de germinación en leguminosas y vegetales se ha estudiado como estrategia para incrementar el consumo diario de selenio (Guardado-Félix et al., 2017). La germinación de garbanzo Kabuli en presencia de selenito de sodio incrementa significativamente el contenido de selenio e isoflavonas, así como la capacidad antioxidante (Guardado-Félix et al., 2017). El consumo de brotes de garbanzo selenizado ha mostrado efectos quimiopreventivos relacionados con la activación de apoptosis y la disminución de la oxidación de lípidos por acción de glutación peroxidasa (Guardado-Félix et al., 2019). Por otra parte, el selenio se acumula principalmente en la fracción de glutelina del grano, en forma de seleno-metionina (Serrano-Sandoval et al., 2019; Zhang et al., 2012). En consecuencia, la producción



de harinas de granos germinados es un área innovativa de la industria de alimentos para el desarrollo de alimentos saludables (Chauhan et al., 2015; Cornejo et al., 2019). Además, que la biofortificación con selenio le daría un valor agregado.

La hidrólisis enzimática se ha utilizado para la liberación de péptidos bioactivos de diferentes matrices alimentarias o para mejorar propiedades tecnofuncionales de las proteínas vegetales como su solubilidad (Montoya-Rodríguez et al., 2014; Sandoval-Sicairos et al., 2021; Tawalbeh et al., 2025). En hidrolizados de garbanzo Kabuli selenizado se encontró una mayor actividad antioxidante comparada con su control (Serrano-Sandoval et al., 2019). A pesar de lo antes mencionado, no sabemos si la germinación-selenización en garbanzo subutilizado *desi* sea favorable sobre el potencial antioxidante como en el grano Kabuli. Asimismo, no se ha evaluado si este procesamiento favorece la liberación y bioaccesibilidad de compuestos nutraceuticos de garbanzo *Desi*, lo que limita su aprovechamiento para ser utilizado como un ingrediente funcional. Por lo antes mencionado, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la germinación en presencia de selenito de sodio y la hidrólisis enzimática (pepsina + pancreatina) sobre el contenido y la bioaccesibilidad de compuestos nutraceuticos en garbanzo *Desi* rojo subutilizado.

Materiales y Métodos

Materiales

Para este estudio se trabajó con el garbanzo subutilizado rojo *desi* (ICC5383) sembrado en campo experimental del Instituto Nacional de Ciencias Forestales, Agricultura y Ganadería (INIFAP), localizado en Culiacán, Sinaloa, México. Las semillas de garbanzo se cosecharon en abril-mayo, se limpiaron para remover el material extraño, y posteriormente se almacenaron en doble bolsa hermética en un contenedor a -20 °C hasta su uso.

Biofortificación con selenio

Para el proceso de germinación en presencia de selenio se utilizó la metodología previamente descrita (Guardado-Félix et al., 2017; Milán-Noris, et al., 2018). Brevemente, 100 g de semillas de garbanzo se desinfectaron en 200 mL de una solución de hipoclorito de sodio al 0.12% durante 3 min, y después se lavaron 3 veces con agua destilada. A continuación, las semillas se hidrataron en 0.85 volúmenes de agua destilada que contenía 2 mg de selenito de sodio durante 6 h a 25 °C. También se utilizó un grupo control al cual solo se hidrató con agua. Una vez hidratadas, las semillas se transfirieron y dispersaron uniformemente en bandejas de plástico. El proceso de germinación se llevó a cabo en una incubadora sin luz a 24 ± 1 °C con



una humedad relativa (HR) del 80% por 5 días. Las semillas germinadas y selenizadas resultantes se secaron en un deshidratador a 60 °C por 25 horas, molieron y almacenaron a -20 °C hasta su análisis.

Determinación de selenio en grano

El contenido de selenio en los brotes de garbanzo se determinó con base en lo reportado por Guardado-Félix et al. (2017). Los brotes fueron digeridos en solución ácida (HNO₃ al 77%). El contenido de selenio de la digestión ácida se midió usando un espectrómetro de masas de plasma acoplado inductivamente (ICP/MS) (Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA) con un nebulizador concéntrico de vidrio Tipo C (Meinhard, Golden, CO, EE. UU.). La tasa de acumulación de selenio se calculó considerando el selenio total que se absorbió por 100 g de semilla hidratada con 2 mg de Na₂SeO₃.

Simulación de digestión gastrointestinal *in vitro*

La simulación de digestión gastrointestinal *in vitro* se realizó en harinas de garbanzos germinados por 5 días en presencia o ausencia de selenito de sodio. La hidrólisis se realizó acorde a la metodología de Sandoval-Sicairos et al. (2020) con modificaciones. El primer paso fue disolver la muestra en agua (1:20 p/v), se ajustó a 37 °C y pH 2. Después se digirió con pepsina [EC 3.4.23.1, ≥250 unidades/mg; enzima/sustrato, 1:20 (p/p)] durante 2 horas. La digestión gástrica se detuvo incrementando el pH a 7.5 para iniciar una continua digestión intestinal con pancreatina [4x USP; enzima/sustrato, 1:20 (p/p); pH 7.5] a 37 °C durante 2 horas. La digestión se detuvo bajando pH a 4 y calentando a 75 °C durante 20 min. Una vez terminados los digeridos, transitaban a ser centrifugados a 20 000 x g, 4°C durante 20 min. Se tomaron alícuotas durante la digestión a los siguientes tiempos: 30, 60, 90, 120, 180, 210 y 240 min, las cuales se filtraron y almacenaron a -20 °C para el posterior análisis de perfil de proteína, potencial antioxidante, contenido de proteína soluble y compuestos fenólicos.

SDS-PAGE

El ensayo se realizó con base en el método de Sandoval-Sicairos et al. (2021). Primeramente, las muestras fueron diluidas en buffer Laemmli (Bio-Rad) con 5%-β-mercaptoetanol y colocadas a ebullición 5 min previos a cargarlas en el gel de separación. Las bandas de los extractos de proteína de garbanzo se analizaron mediante SDS-PAGE utilizando geles de 15% de poliacrilamida (Bio-Rad). Se utilizó el estándar de peso molecular de proteínas Dual color (Bio-Rad). La etapa de electroforesis se



realizó a 110 voltios durante 120 min en una solución fijadora de 10% de Buffer Tris Glicina y 90% de agua. Las imágenes se obtuvieron utilizando el sistema de imagen “Gel Doc™ XR+ Gel Documentation System” (Bio-Rad).

Determinación de proteína soluble

El contenido total de proteína soluble se determinó mediante el “DC-Protein Assay kit” (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA) para microplacas. Brevemente, 5 μ L de muestra o curva se agregaron en una microplaca (transparente). Posterior a esto se añadieron 25 μ L de reactivo A (solución de tartrato de cobre alcalino) y 200 μ L de reactivo B (reactivo folin diluido) (Bio-Rad 500-0116). Se encuba 15 min y se lee a 690 nm en un espectrofotómetro. Se utilizó una curva estándar de suero bovino. Los resultados fueron expresados como mg de proteína soluble en mL (mg PS/mL).

Determinación del contenido de fenólicos totales (CFT)

El contenido de fenólicos totales se determinó con base en el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton et al. (1999). Primero, en cada uno de los microtubos se colocaron 100 μ L de la curva/muestra, después se añadieron 50 μ L del reactivo Folin-Ciocalteu 2N, pasados 5 min, se agregaron 400 μ L de carbonato de sodio 2N, después de 5 min, se agregó 1 mL de agua destilada. Posteriormente, las muestras fueron incubadas a temperatura ambiente durante 90 min y, una vez finalizado el tiempo, se colocaron 200 μ L de cada muestra en una microplaca y se tomó lectura de absorbancia a 740 nm. La cuantificación se llevó a cabo utilizando una curva de ácido gálico y los resultados de CFT se expresaron en mg equivalentes de ácido gálico (EAG)/ g muestra.

Potencial antioxidante

La capacidad antioxidante de los concentrados proteicos se determinó utilizando el ensayo de capacidad de absorbancia de radicales de oxígeno (ORAC), de acuerdo con el método descrito por Ou et al. (2001). Se utilizó AAPH como generador de peroxilo y Trolox como el estándar antioxidante. Se adicionaron los reactivos en el siguiente orden: 20 μ L del estándar de trolox, 20 μ L de las muestras en PBS, 120 μ L de solución de fluoresceína; y 60 μ L de AAPH. La placa será incubada durante 15 min a 37 °C previo a la adición de AAPH e inmediatamente después de la adición de AAPH, la placa se colocó en el lector de microplaca Synergy HTX (Bio-Tek Instruments, Winooski, VT), con una excitación de 485 nm y una emisión de filtro de 520 nm, y se monitorearon las absorbancias cada 2 min durante 2 h. Los resultados se calcularon basándose en las diferencias de área bajo la curva cayente fluorescente



entre el blanco y las muestras y se expresaron como micromoles de equivalentes de trolox (μmol de ET) /mg PS.

Análisis estadístico

Los datos se reportaron como la media $\pm$ desviación estándar de 3 réplicas, y se analizaron mediante ANOVA de una vía, seguido de la prueba de Tukey para detectar diferencias de acuerdo con el contenido de selenio y el tiempo de hidrólisis. Un valor de $p < 0.05$ se consideró significativo. El análisis estadístico se llevó a cabo mediante el software JMP del instituto SAS (Cary, NC, EE. UU.).

Resultados y Discusión

Biofortificación con Selenio

En la Tabla 1 se muestran los valores de acumulación de selenio después de cinco días de germinación en presencia de selenito de sodio, donde se observó una acumulación eficiente de selenio superior al 90%. De acuerdo con Lazo-Vélez et al. (2015), la tasa de asimilación del selenio y la conversión a su forma orgánica se ve asociada al tiempo y temperatura de germinación, así como la cantidad y tipo de selenio presente en la solución utilizada. Asimismo, la absorción de selenio podría ser influenciada por las características físicas de las semillas de garbanzo, como la testa (Wood et al., 2011). Sin embargo, el garbanzo Desi estudiado tuvo un porcentaje de acumulación de selenio mayor a los reportados (76%) para el grano Kabuli, a pesar de las diferencias en proporción y por lo tanto grosor de la testa entre los granos Kabuli (3 a 5%) y Desi (9 a 15%) (Guardado-Félix et al., 2017; Milán-Noris et al., 2017). La alta acumulación de selenio sugiere la eficacia del proceso de biofortificación de garbanzo Desi y su potencial como suplementación de este micronutriente. Varios estudios han asociado que el selenio absorbido durante este proceso se convierte principalmente en forma orgánica como seleniometionina que se asocia a las proteínas de reserva haciéndolas más biodisponibles (Serrano-Sandoval et al., 2019; Zhang et al., 2012).

Tabla 1. Contenido de selenio en garbanzo rojo germinado y selenizado

	Contenido de selenio (μg Se/g bs**.)	% selenio acumulado
Germinado	<LOD***	
Selenizado*	9.07 $\pm$ 0.04	97.90 $\pm$ 0.49

*2 mg de selenito de sodio/100 g. ** b.s. base seca. *** LOD. Límite de detección (<0.5 μg Se/g).

Fuente: propia

Efecto del tiempo de hidrólisis enzimática sobre el perfil de proteínas y contenido de proteína soluble en garbanzo germinado-selenizado

En la Figura 1 se observa el perfil de proteínas de los hidrolizados de garbanzo germinado y garbanzo germinado-selenizado, donde se identifican las principales fracciones proteicas: globulinas 11S y 7S, albúminas y glutelinas. A medida que incrementó el tiempo de hidrólisis, se observó una degradación progresiva de las proteínas de alto peso molecular, con la desaparición de bandas entre 55 y 100 kDa desde los primeros 30 min de hidrólisis con pepsina, lo que indica una proteólisis efectiva de las proteínas de reserva. Con el transcurso de la hidrólisis a los 150 min de digestión secuencial (120 min con pepsina y 30 min con pancreatina), las bandas correspondientes a pesos moleculares entre 15 y 37 kDa se hidrolizaron casi por completo, se observan principalmente fragmentos menores a 10 kDa, los cuales podrían ser asociados a la generación de péptidos bioactivos con potencial nutracéutico. Estos comportamientos similares se han reportado en la hidrólisis de proteínas de garbanzo y amaranto germinado, donde la degradación progresiva lleva a acumular péptidos de bajo peso molecular con potencial actividad biológica (Milán-Noris et al.).

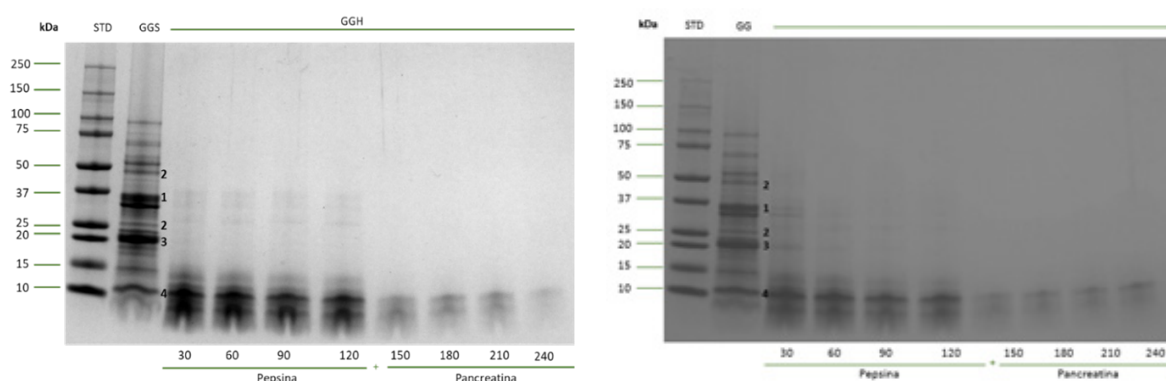


Figura 1. Perfil de proteínas (SDS-PAGE) en hidrolizados de garbanzo Desi rojo germinado y selenizado. A: Garbanzo Desi rojo selenizado; B: Garbanzo Desi rojo germinado; 1: Globulinas 11s; 2: Globulina 7s; 3: Albumina; 4: Glutelina; STD: Estándar de peso molecular de proteínas dual color; GG: Garbanzo germinado; GGH: Garbanzo germinado hidrolizado.

Fuente: propia

Por otra parte, durante la hidrólisis con pepsina (30 a 120 min) se observa mayor resistencia a la hidrólisis en las bandas de 15 a 37 kDa en las muestras germinadas-selenizadas (Figura 1 A) al compararse con las muestras sin selenio (Figura 1 B), lo que sugiere que la incorporación de selenio puede tener un efecto en la estructura o acceso de las proteínas a la acción enzimática. Efectos similares han sido reportados, los cuales podrían atribuirse a la incorporación de selenio como selenometionina a



las proteínas de reserva, cambiando su conformación o interacciones proteína-proteína que retrasen la proteólisis (Calvo et al., 2016; Serrano-Sandoval et al., 2019; L. Wang et al., 2018).

En la Tabla 2 se observa un incremento en el contenido de proteína soluble (PS) ($p < 0.05$) en función del tiempo de hidrólisis. La hidrólisis completa incrementó cinco veces PS tanto en la muestra germinada como en la germinada-selenizada, lo que podría indicar una correcta proteólisis de las proteínas de reserva. Al comparar el hidrolizado al tiempo 240 min, la PS incrementó 400% en ambas muestras al compararla con su correspondiente muestra sin hidrolizar. Comportamientos similares se han observado durante la hidrólisis de amaranto extrudido y germinado (Montoya-Rodríguez et al., 2014; Sandoval-Sicairos et al., 2020). Por otra parte, en estudios previos de garbanzo Desi verde germinado a pesar de reportar con diferentes unidades (mg PS/mL versus mg/g), y procesar diferente SDG, se observaron comportamientos similares, la harina germinada y el digerido insoluble tuvieron un contenido de PS de 250 y 590 mg/g, respectivamente (Milán-Noris et al., 2018).

Tabla 2. Contenido de proteína soluble, compuestos fenólicos totales y potencial antioxidante en hidrolizados de garbanzo rojo germinado y selenizado

Tiempo de hidrólisis (min)	Proteína soluble (mg PS/mL)		Fenólicos totales (mg EAG/g)		Potencial antioxidante ORAC ($\mu\text{mol ET/mg PS}$)	
	Germinado	Selenizado*	Germinado	Selenizado*	Germinado	Selenizado*
Sin Hidrolizar						
0	2.6 $\pm$ 0.0 ^{A_f}	2.6 $\pm$ 0.0 ^{A_e}	0.28 $\pm$ 0.0 ^{B_e}	0.29 $\pm$ 0.0 ^{A_b}	146 $\pm$ 5.7 ^{A_d}	119 $\pm$ 10.0 ^{B_d}
Pepsina						
30	9.7 $\pm$ 0.3 ^{B_e}	11.2 $\pm$ 0.5 ^{A_d}	4.30 $\pm$ 0.0 ^{B_d}	4.52 $\pm$ 0.1 ^{A_a}	357 $\pm$ 35.1 ^{A_b}	254 $\pm$ 13.3 ^{B_c}
60	10.7 $\pm$ 0.7 ^{A_{de}}	11.2 $\pm$ 0.4 ^{A_d}	4.57 $\pm$ 0.1 ^{A_{ab}}	4.59 $\pm$ 0.2 ^{A_a}	334 $\pm$ 13.9 ^{A_b}	279 $\pm$ 13.3 ^{B_c}
90	11.2 $\pm$ 0.5 ^{A_{cd}}	11.8 $\pm$ 0.1 ^{A_{cd}}	4.50 $\pm$ 0.1 ^{A_{abc}}	4.72 $\pm$ 0.3 ^{A_a}	297 $\pm$ 15.3 ^{A_c}	324 $\pm$ 7.2 ^{B_b}
120	11.6 $\pm$ 0.4 ^{A_{bcd}}	12.0 $\pm$ 0.5 ^{A_{cd}}	4.44 $\pm$ 0.1 ^{B_{abcd}}	4.75 $\pm$ 0.2 ^{A_a}	334 $\pm$ 12.8 ^{A_b}	362 $\pm$ 12.4 ^{A_a}
Pepsina + Pancreatina						
150	11.9 $\pm$ 0.4 ^{A_{abcd}}	12.4 $\pm$ 0.8 ^{A_{abcd}}	4.28 $\pm$ 0.1 ^{B_d}	4.74 $\pm$ 0.2 ^{A_a}	381 $\pm$ 2.1 ^{A_{ab}}	313 $\pm$ 0.0 ^{B_b}
180	12.4 $\pm$ 0.2 ^{A_{abc}}	13.3 $\pm$ 0.8 ^{A_{abc}}	4.39 $\pm$ 0.0 ^{B_{bcd}}	4.70 $\pm$ 0.1 ^{A_a}	357 $\pm$ 6.9 ^{A_b}	314 $\pm$ 1.2 ^{B_b}
210	12.7 $\pm$ 0.3 ^{A_{ab}}	13.7 $\pm$ 0.6 ^{A_{ab}}	4.35 $\pm$ 0.1 ^{B_{cd}}	4.61 $\pm$ 0.1 ^{A_a}	423 $\pm$ 1.7 ^{A_a}	364 $\pm$ 6.3 ^{B_a}
240	13.0 $\pm$ 0.4 ^{B_a}	14.1 $\pm$ 0.3 ^{A_a}	4.59 $\pm$ 0.0 ^{A_a}	4.65 $\pm$ 0.2 ^{A_a}	383 $\pm$ 6.6 ^{A_{ab}}	356 $\pm$ 6.1 ^{B_a}

*2 mg de selenito de sodio/100 g. PS: proteína soluble. Los resultados se expresan como medias $\pm$ la desviación estándar. Las medias con letras mayúsculas diferentes por la línea de cada variedad indican una diferencia significativa ($p < 0.05$) por efecto de la selenización. Las medias con letras minúsculas diferentes por columna indican diferencia significativa ($p < 0.05$) por efecto de la hidrólisis enzimática.

Fuente: propia



Este incremento de PS puede relacionarse con la ruptura de enlaces peptídicos y la generación de péptidos de menor peso molecular, como se puede observar en la Figura 1. Péptidos de bajo peso molecular (< 10 kDa) se les ha encontrado ser más efectivos como antioxidantes o antihipertensivos que los péptidos de mayor peso molecular, quizás por tener una mejor accesibilidad y solubilidad (Daliri et al., 2017). Por otra parte, no se encontró una diferencia entre las muestras germinadas y selenizadas, por lo que se puede inferir que el contenido de selenio no afecta el contenido de proteína soluble. Pudimos observar que la hidrólisis enzimática mejora la solubilidad y bioaccesibilidad de las proteínas de garbanzo Desi mejorando su potencial como ingrediente funcional.

Efecto del tiempo de hidrólisis enzimática sobre el contenido de fenólicos totales y la capacidad antioxidante en garbanzo germinado-selenizado

El contenido de compuestos fenólicos (CFT) en garbanzo germinado y garbanzo selenizado incrementó significativamente debido a la hidrólisis enzimática. Al comparar los diferentes hidrolizados (30 a 240 min) con sus correspondientes muestras sin digerir, el CFT incrementa de 15 a 16 veces, sin efecto significativo atribuible al contenido de selenio. Resultados similares se han encontrado en hidrolizados de amaranto germinado (14-15 veces) al compararse con la muestra sin digerir (Sandoval-Sicairos et al., 2020). En estudios previos de garbanzo Desi verde germinado reportamos 3 mg EAG /g de CFT y de que se procesaron diferente la SDG liberó un alto valor de CFT (9 mg EAG /g) para el digerido insoluble (Milán-Noris et al., 2018). El valor más alto que encontramos en nuestro hidrolizado fue de 4.7 mg EAG/g

Por otra parte, el garbanzo, como otras leguminosas, tiene cantidades importantes de almidón, proteína y fibra, y junto a estos macronutrientes podemos encontrar varios compuestos fenólicos que se encuentran conjugados o ligados a estos, por lo que la conjugación de germinación e hidrólisis enzimática ayuda a hacer más bioaccesibles a los compuestos fenólicos (Rocchetti et al., 2022). Entre mejor la bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos, mayor la probabilidad de llegar a tejidos blancos. Los compuestos fenólicos contribuyen a la prevención del estrés oxidativo por inactivación de especies reactivas de oxígeno, intercambio de electrones o hidrógeno, quelación de metales prooxidantes y modulación de los sistemas antioxidantes endógenos ayudando a reducir el daño oxidativo en las células (Rudrapal et al., 2022).

El potencial antioxidante (ORAC) de los hidrolizados de garbanzo germinado y garbanzo germinado-selenizado aumentó ($p < 0.05$) debido al tiempo de hidrólisis. Al comparar los hidrolizados con su correspondiente contraparte sin hidrolizar, el potencial antioxidante aumentó de 2.1 a 2.6 veces. Las muestras variaron de 146 a



423 $\mu\text{mol ET/mg PS}$ en la muestra germinada y de 119 a 364 $\mu\text{mol ET/mg PS}$ en la muestra selenizada. Debido a que normalizamos el potencial antioxidante con base en el contenido de proteína soluble y las diversas metodologías para determinar la capacidad antioxidante son complicadas, comparar numéricamente la capacidad antioxidante con otras referencias es complicado.

Adicionalmente, en un estudio se utilizaron tres metodologías diferentes para determinar el potencial antioxidante, método de blanqueo de β -caroteno, poder de reducción y DPPH, en hidrolizados de garbanzo (sin especificar tipo) por alcalasa y flavorenzima, donde todos los hidrolizados presentaron mejor capacidad antioxidante independiente del método utilizado al compararse con su control sin hidrolizar (Yust et al., 2012). Otros investigadores han observado una mejor actividad antioxidante celular (Caco-2) en hidrolizados de glutelina de garbanzo kabuli selenizado (59%) comparado con su control (39%) (Serrano-Sandoval et al., 2019). Sin embargo, no se observó un efecto por la presencia de selenio durante la germinación en este estudio.

En este estudio observamos que la combinación de procesos como germinación-selenización e hidrólisis enzimática libera tanto compuestos fenólicos como posibles péptidos bioactivos, los cuales contribuyen al potencial biológico de los hidrolizados de garbanzo como previamente lo hemos observado en garbanzo y amaranto (Milán-Noris et al., 2018; Sandoval-Sicairos et al., 2021). El procesamiento del garbanzo de este estudio genera ingredientes funcionales con potencial para el tratamiento de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo y valoriza el potencial de este grano subutilizado.

Conclusiones

En este estudio se observó que la selenización del garbanzo rojo Desi no incrementó significativamente el contenido de los compuestos bioactivos o potencial antioxidante a pesar de lo reportado para garbanzo Kabuli; sin embargo, la biofortificación con selenio sigue siendo una estrategia útil para contribuir a la ingesta de este micronutriente esencial en la dieta. Además, la combinación del proceso de germinación e hidrólisis enzimática mostró ser una estrategia eficaz para liberación y bioaccesibilidad de compuestos antioxidantes como péptidos y compuestos fenólicos. Estos hallazgos muestran que el garbanzo Desi, a pesar de ser poco utilizado para consumo humano, tiene un alto potencial para el desarrollo de ingredientes alimentarios con beneficios para la salud. Finalmente, este trabajo contribuye a ampliar el conocimiento científico sobre el aprovechamiento del garbanzo Desi, una leguminosa subutilizada para el consumo humano, y respalda su valorización mediante procesos biotecnológicos orientados a la nutrición y la salud.



Conflicto de intereses

Los autores declaran que la investigación se realizó en ausencia de cualquier relación comercial o financiera que pudiera interpretarse como un potencial conflicto de interés.

Financiamiento

El proyecto se financió con fondos internos del grupo de investigación.

Agradecimientos

Los autores (Keila Milán, Alvaro Montoya, Evelia Milán y Daniela Guardado) de este trabajo son miembros de la red INNOPROT fundada por cyted (Red 124RT0164).

Referencias

- Chauhan, A., Saxena, D. C., & Singh, S. (2015). Total dietary fibre and antioxidant activity of gluten free cookies made from raw and germinated amaranth (*Amaranthus* spp.) flour. *LWT - Food Science and Technology*, 63(2), 939-945. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.115>
- Chavan, J., Kadam, S., Salunkhe, D., & Beuchat, L. R. (1987). Biochemistry and technology of chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds. *Critical Reviews in Food Science Nutrition*, 25(2), 107-158. <https://doi.org/10.1080/10408398709527449>
- Cornejo, F., Novillo, G., Villacrés, E., & Rosell, C. M. (2019). Evaluation of the physicochemical and nutritional changes in two amaranth species (*Amaranthus quitensis* and *Amaranthus caudatus*) after germination. *Food Research International*, 121, 933-939. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.01.022>
- Daliri, E. B.-M., Oh, D. H., & Lee, B. H. (2017). Bioactive Peptides. *Foods*, 6(5), 32. <https://www.mdpi.com/2304-8158/6/5/32>
- Garzon-Tiznado, J. A., Heiras Palazuelos, M. d. J., Espinoza Moreno, R. J., 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(1), 38-47. <https://doi.org/10.6000/1927-5951.2013.03.01.5>
- Guardado-Félix, D., Antunes-Ricardo, M., Rocha-Pizaña, M. R., Martínez-Torres, A.-C., Gutiérrez-Urbe, J. A., & Saldivar, S. O. S. (2019). Chickpea (*Cicer arietinum* L.) sprouts containing supranutritional levels of selenium decrease tumor growth of colon cancer cells xenografted in immune-suppressed mice. *Journal of Functional Foods*, 53, 76-84. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.07.003>
- Guardado-Félix, D., Serna-Saldivar, S. O., Cuevas-Rodríguez, E. O., Jacobo-Velázquez, D. A., & Gutiérrez-Urbe, J. A. (2017). Effect of sodium selenite on isoflavo-



- noid contents and antioxidant capacity of chickpea (*Cicer arietinum* L.) sprouts. *Food Chemistry*, 226, 69-74. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.046>
- Gupta, R. K., Gupta, K., Sharma, A., Das, M., Ansari, I. A., & Dwivedi, P. D. (2017). Health Risks and Benefits of Chickpea (*Cicer arietinum*) Consumption. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(1), 6-22. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b02629>
- Heiras-Palazuelos, M. J., Ochoa-Lugo, M. I., Gutiérrez-Dorado, R., López-Valenzuela, J. A., Mora-Rochín, S., Milán-Carrillo, J., Garzón-Tiznado, J. A., & 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. <https://doi.org/doi:10.3109/09637486.2012.694854>
- Hu, Y., McIntosh, G.H., Le, R.K., Woodman, R., & Young, G.P. (2008). Suppression of colorectal oncogenesis by selenium-enriched milk proteins: apoptosis and K-ras mutations. *Cancer Research*, 68(12), 4936-44. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-07-6042
- Jukanti, A. K., Gaur, P. M., Gowda, C., & Chibbar, R. N. (2012). Nutritional quality and health benefits of chickpea (*Cicer arietinum* L.): a review. *British Journal of Nutrition*, 108(S1), S11-S26. <https://doi.org/10.1017/S0007114512000797>
- Lazo-Vélez, M. A., Chávez-Santoscoy, A., & Serna-Saldivar, S. O. (2015). Selenium-Enriched Breads and Their Benefits in Human Nutrition and Health as Affected by Agronomic, Milling, and Baking Factors. *Cereal Chemistry*, 92(2), 134-144. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-05-14-0110-RW>
- Mehany, T., Olawoye, B., & Popoola-Akinola, O. (2025). Exploring bioactive compounds and biological functions of underutilized legumes: Advancing the development of ideal plant-based milks (in press). *Journal of Future Foods*. <https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2025.05.010>
- Milán-Noris, A. K., de la Rosa-Millán, J., Reyes-Moreno, C., & Serna-Saldivar, S. O. (2017). Physicochemical, functional properties, and digestion of isolated starches from pigmented chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. *Starch - Stärke*, 69(5-6), 1600152. <https://doi.org/10.1002/star.201600152>
- Milán-Noris, A. K., De la Rosa-Millan, J., & Serna-Saldivar, S. O. (2019). Comparative analysis of techno-functional properties, starch digestion and protein quality of pigmented chickpea flours. *International Journal of Food Science & Technology*, 54(6), 2288-2299. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/ijfs.14144>
- Milán-Noris, A. K., Gutiérrez-Urbe, J. A., Santacruz, A., Serna-Saldivar, S. O., & Martínez-Villaluenga, C. (2018). Peptides and isoflavones in gastrointestinal



- digests contribute to the anti-inflammatory potential of cooked or germinated desi and kabuli chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Food Chemistry*, 268, 66-76. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.068>
- Milán-Noris, A. K., Gutiérrez-Urbe, J. A., & Serna-Saldivar, S. O. (2023). Influence of soaking and boiling on flavonoids and saponins of nine desi chickpea cultivars with potential antiproliferative effects. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 17(4), 3473-3481. <https://doi.org/10.1007/s11694-023-01861-4>
- Montoya-Rodríguez, A., de Mejía, E. G., Dia, V. P., Reyes-Moreno, C., & Milán-Carrillo, J. (2014). Extrusion improved the anti-inflammatory effect of amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) hydrolysates in LPS-induced human THP-1 macrophage-like and mouse RAW 264.7 macrophages by preventing activation of NF- κ B signaling. *Molecular Nutrition Food Research*, 58(5), 1028-1041. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201300764>
- Ou, B., Hampsch-Woodill, M., & Prior, R. L. (2001). Development and Validation of an Improved Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay Using Fluorescein as the Fluorescent Probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(10), 4619-4626. <https://doi.org/10.1021/jf010586o>
- Quintero-Soto, M. F., Saracho-Peña, A. G., Chavez-Ontiveros, J., Garzon-Tiznado, J. A., Pineda-Hidalgo, K. V., Delgado-Vargas, F., & Lopez-Valenzuela, J. A. (2018). Phenolic profiles and their contribution to the antioxidant activity of selected chickpea genotypes from Mexico and ICRISAT collections. *Plant Foods for Human Nutrition*, 73(2), 122-129. <https://doi.org/10.1007/s11130-018-0661-6>
- Raza, H., Ameer, K., Zaaboul, F., Sharif, H. R., Ali, B., Shoaib, M., Akhtar, W., & Zhang, L. (2019). Effects of ball-milling on physicochemical, thermal and functional properties of extruded chickpea (*Cicer arietinum* L.) powder. *CyTA-Journal of Food*, 17(1), 563-573. <https://doi.org/10.1080/19476337.2019.1617352>
- Rocchetti, G., Gregorio, R. P., Lorenzo, J. M., Barba, F. J., Oliveira, P. G., Prieto, M. A., Simal-Gandara, J., Mosele, J. I., Motilva, M. J., & Tomas, M. (2022). Functional implications of bound phenolic compounds and phenolics–food interaction: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science Food Safety*, 21(2), 811-842.
- Rudrapal, M., Khairnar, S. J., Khan, J., Dukhyil, A. B., Ansari, M. A., Alomary, M. N., Alshabirmi, F. M., Palai, S., Deb, P. K., & Devi, R. (2022). Dietary Polyphenols and Their Role in Oxidative Stress-Induced Human Diseases: Insights



- Into Protective Effects, Antioxidant Potentials and Mechanism(s) of Action [Review]. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 806470. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.806470>
- Sandoval-Sicairos, E. S., Domínguez-Rodríguez, M., Montoya-Rodríguez, A., Milán-Noris, A. K., Reyes-Moreno, C., & Milán-Carrillo, J. (2020). Phytochemical Compounds and Antioxidant Activity Modified by Germination and Hydrolysis in Mexican Amaranth. *Plant Foods for Human Nutrition*, 75(2), 192-199. <https://doi.org/10.1007/s11130-020-00798-z>
- Sandoval-Sicairos, E. S., Milán-Noris, A. K., Luna-Vital, D. A., Milán-Carrillo, J., & Montoya-Rodríguez, A. (2021). Anti-inflammatory and antioxidant effects of peptides released from germinated amaranth during *in vitro* simulated gastrointestinal digestion. *Food Chemistry*, 343, 128394. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128394>
- Sanmartín, C., Plano, D., Sharma, A. K., & Palop, J. A. (2012). Selenium Compounds, Apoptosis and Other Types of Cell Death: An Overview for Cancer Therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(8), 9649-9672. <https://www.mdpi.com/1422-0067/13/8/9649>
- Serrano-Sandoval, S. N., Guardado-Félix, D., & Gutiérrez-Urbe, J. A. (2019). Changes in digestibility of proteins from chickpeas (*Cicer arietinum* L.) germinated in presence of selenium and antioxidant capacity of hydrolysates. *Food Chemistry*, 285, 290-295. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.137>
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in enzymology*, 299, 152-178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Tawalbeh, D., Ahmad, F., Alu'datt, M. H., & Sarbon, N. M. (2025). Production improvement of Kabuli chickpea (*Cicer arietinum* L.) protein hydrolysates through ultrasonic pre-treatment approach: Impact on techno-functional properties and antioxidant activity. *Food Chemistry Advances*, 9, 101175. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2025.101175>
- Wood, J. A., Knights, E. J., & Choct, M. (2011). Morphology of Chickpea Seeds (*Cicer arietinum* L.): Comparison of desi and kabuli Types. *International Journal of Plant Sciences*, 172(5), 632-643. <https://doi.org/10.1086/659456>
- Yust, M.delM., Millán-Linares, M.delC., Alcaide-Hidalgo, J. M., Millán, F., & Pedroche, J. (2012). Hypocholesterolaemic and antioxidant activities of chickpea (*Cicer arietinum* L.) protein hydrolysates. *Journal of the science of food and agriculture*, 92(9), 1994-2001. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5573>



Zhang, L., Li, Q., Yang, X., & Xia, Z. (2012). Effects of sodium selenite and germination on the sprouting of chickpeas (*Cicer arietinum* L.) and its content of selenium, formononetin and biochanin A in the sprouts. *Biological trace element research*, 146(3), 376-380. <https://doi.org/10.1007/s12011-011-9261-0>