



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN.**

“Relación entre el deterioro de semilla de lenteja (*Lens
culinaris*) y su calidad nutrimental y funcional”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
INGENIERA EN ALIMENTOS

PRESENTA:

Lizet Sánchez Sánchez

Asesor:

Dr. Enrique Martínez Manrique

Co Asesora:

I.A. Verónica Jiménez Vera

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO MÉXICO, 2023.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ASUNTO: VOTO APROBATORIO



ATN: DRA. MARIA DEL CARMEN VALDERRAMA BRAVO
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.
DE TITULACIÓN

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de Tesis**

Relación entre el deterioro de semilla de lenteja (Lens culinaris) y su calidad nutrimental y funcional.

Que presenta la pasante: **Lizet Sánchez Sánchez**

Con número de cuenta: **418071355** para obtener el título de: **Ingeniera en Alimentos.**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

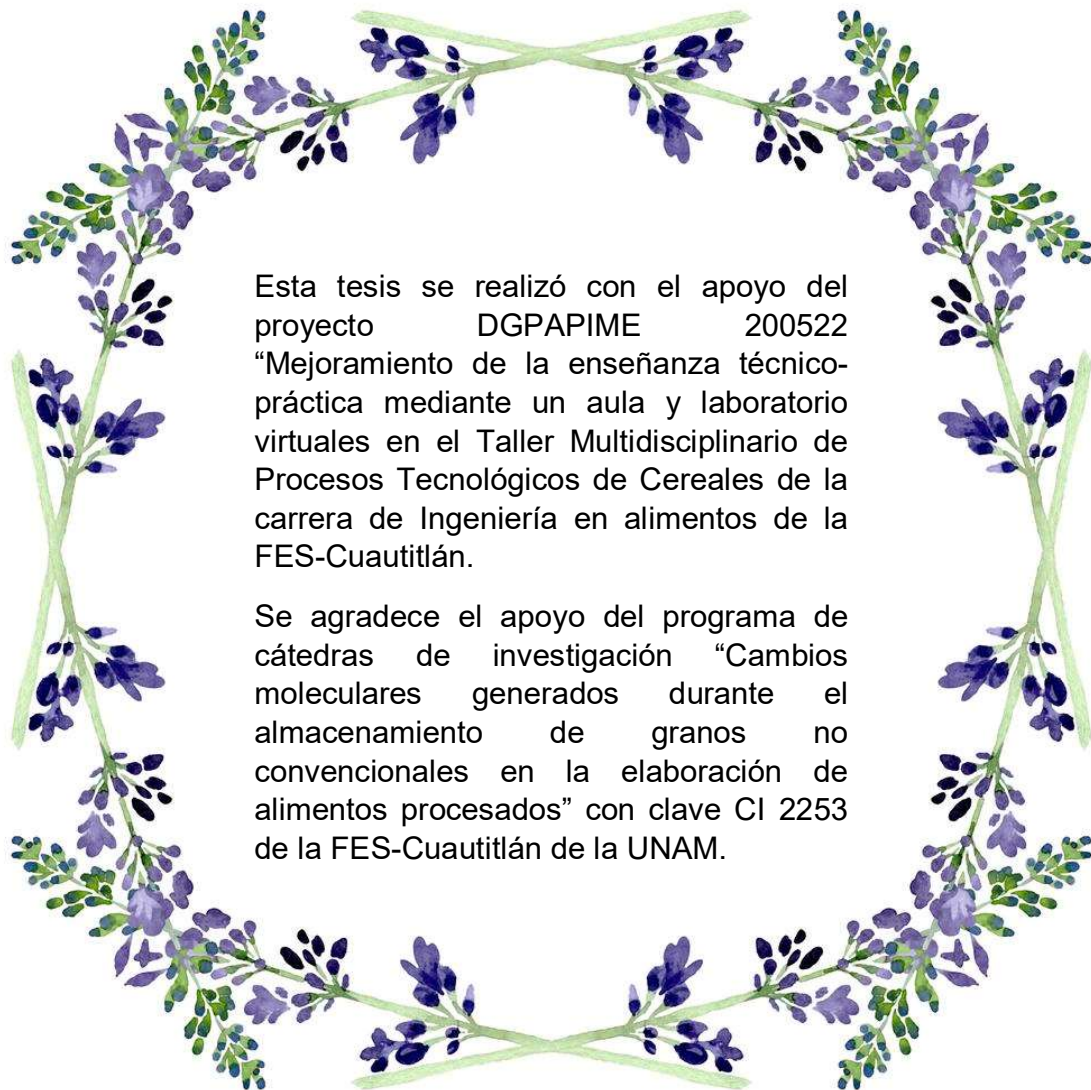
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 16 de Mayo de 2023.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	M. en C. Tais Nopal Guerrero	
VOCAL	Dr. Enrique Martínez Manrique	
SECRETARIO	I.A. Virginia López García	
1er. SUPLENTE	I.Q. Mauricio Daniel Vicuña Gómez	
2do. SUPLENTE	Dra. Karla Aguilar Lara	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional

MCVB/cga*



Esta tesis se realizó con el apoyo del proyecto DGPAPIME 200522 “Mejoramiento de la enseñanza técnico-práctica mediante un aula y laboratorio virtuales en el Taller Multidisciplinario de Procesos Tecnológicos de Cereales de la carrera de Ingeniería en alimentos de la FES-Cuautitlán.

Se agradece el apoyo del programa de cátedras de investigación “Cambios moleculares generados durante el almacenamiento de granos no convencionales en la elaboración de alimentos procesados” con clave CI 2253 de la FES-Cuautitlán de la UNAM.

Agradecimientos.



Agradezco a Dios por haberme permitido llegar hasta este día, por nunca abandonarme y siempre llevarme de la mano a pesar del último año de mi vida, gracias. Te amo. ❤️

Papá, gracias por estar aquí y por formar una profesionalista y una mujer independiente, por todas esas veces que me enseñaste que fuera una guerrera y no una princesa, hoy lo entiendo y es el mayor de los legados que me has dejado. Gracias por el apoyo incondicional, por abrirte a mí y permitirme ser parte de tu vida, espero llenarte de orgullo. Te amo. ❤️

Gracias, mamá por siempre confiar que este día llegaría y nunca dudar de mis logros y metas, jamás olvidaré ni dejaré de valorar que venciste al cáncer dos veces para no dejarme sola y aunque una tercera vez no fue posible formaste una mujer de bien. Te amo. ❤️

A mis amigos de toda la carrera, Bet-el y Erick, chicos gracias infinitamente por acompañarme en este camino, por los desvelos, las risas y los lazos formados que siempre llevaré en mi corazón. Siempre me han mostrado su apoyo y siempre me dieron palabras de aliento, gracias por mostrarme lo que significa tener amigos de verdad. Los amo. ❤️

Gracias a mis asesores, el Dr. Enrique Martínez Manrique y la I.A Verónica Jiménez Vera por el apoyo, la enseñanza, las experiencias y días de risa que hacían ameno el trabajo. 🧪

A ti, mi vida. Que eres ese faro de luz entre tanta oscuridad, tú que eres mi “para que”, mi razón de seguir aquí a pesar de tanta adversidad en la que llegaste a mí y con las circunstancias más difíciles que he tenido que vivir. Tú mi pequeña que te metiste en mi corazón con sólo mirarte. Pensé que me necesitabas sin saber que la que más te necesitaba era yo.

Gracias por estar aquí mi querida y preciosa Cleopatra. 🐈

ÍNDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
1. CAPÍTULO I. ANTECEDENTES	4
1.1 Definición de Legumbre	5
1.1.2. Clasificación de legumbres.....	5
1.2. La lenteja	6
1.2.1. Variedades de lenteja.....	7
1.2.2. Morfología.....	8
1.2.3. Producción y Consumo.....	10
1.2.4. Composición química.....	11
1.2.5. Componentes antinutrimientales.....	15
1.2.6. Componentes funcionales.....	17
1.3. Almacenamiento de granos y semillas	19
1.3.1. Definición de almacenamiento.....	19
1.3.2. Métodos de almacenamiento.....	21
1.3.3. Tipo de almacenes.....	22
1.3.4. Factores bióticos y abióticos.....	22
1.3.5. Medidas para un correcto almacenamiento.....	25
1.4. Deterioro de semillas	26
1.4.1. Estrés oxidativo de los granos y semillas.....	28
1.4.2. Radicales libres y especies reactivas de oxígeno (ERO).....	30
1.4.3. Especies reactivas de nitrógeno (RNS).....	31
2. CAPÍTULO II. DESARROLLO EXPERIMENTAL	35
2.1. OBJETIVOS	36
2.1.1. Objetivo general.....	36
2.1.2. Objetivos particulares.....	36
2.1.3. Cuadro metodológico.....	37
2.2. Metodología	38
2.2.1. Material biológico.....	38
2.3. Parámetros de deterioro	39

2.3.1. Ensayos de germinación.....	39
2.4. Análisis bioquímico.....	39
2.4.1. Escape de electrolitos.	39
2.5. Análisis químico proximal.....	40
2.5.1. Determinación de humedad.....	40
2.5.2. Determinación de cenizas.....	41
2.5.3. Determinación de proteínas.	42
2.5.4. Determinación de grasa	44
2.5.5. Fibra cruda.....	45
2.6. Calidad nutrimental.	46
2.6.1. Triptófano (cuantificación).	46
2.6.2. Digestibilidad <i>in vitro</i>	48
2.6.3. Almidón total.	49
2.6.4. Almidón digerible	50
2.7. Compuestos funcionales.....	51
2.7.1. Capacidad antioxidante.....	51
2.7.2. Compuestos fenólicos.....	52
2.7.3. Almidón resistente.	53
2.7.4. Fibra dietética.....	55
2.8. Compuestos antinutrientales.....	56
2.8.1. Ácido fítico.	56
2.8.2. Taninos.....	58
2.8.3. Inhibidores de tripsina.....	59
2.9. Determinación de estrés oxidativo.....	60
2.9.1. Determinación de carbonilos.	60
2.9.2. Determinación de carbonilos en proteína.....	61
2.9.4. Determinación de malondialdehído (MDA).....	62
2.10. Actividad enzimática.	63
2.10.1. Obtención de extracto enzimático.	63
2.10.2. Actividad de peroxidasa (POX).....	64
2.10.3. Actividad de catalasa (CAT).....	65
2.10.4. Actividad de superóxido dismutasa (SOD).	66
2.11. Método estadístico.	66

3. CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	68
3.1. Parámetros de deterioro	69
3.2. Análisis químico proximal	69
3.3. Calidad nutrimental	70
3.4. Compuestos antinutrimientales	71
3.5. Compuestos funcionales	72
3.6. Estrés oxidativo	73
Conclusión	76
Recomendaciones	76
Referencias	77
ANEXOS	86

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Producción de lenteja de año 2019 en México	10
Tabla 2. Composición química de la lenteja	12
Tabla 3. Resultados de la prueba de germinación y conductividad de la lenteja deteriorada.	69
Tabla 4. Análisis químico proximal de semillas de lenteja deterioradas	69
Tabla 5. Calidad nutrimental de semillas de lenteja deteriorada.....	70
Tabla 6. Compuestos antinutrimientales presentes en semillas de lenteja deterioradas	71
Tabla 7. Factores funcionales para lenteja deteriorada	72
Tabla 8. Concentración de proteínas, carbonilos y malondialdehído en semillas de lenteja deterioradas	73
Tabla 9. Sistema enzimático de defensa contra estrés oxidativo de lenteja deteriorada	74

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Legumbres.....	5
Figura 2.	Clasificación de leguminosas.....	6
Figura 3.	Producción mundial de lentejas por país, señalados en color naranja	6
Figura 4.	Lenteja a) variedad verdina, b) diferentes variedades	8
Figura 5.	Fisiología de la planta de lenteja	9
Figura 6.	Estructura de la semilla de lenteja	10
Figura 7.	Fuentes de fibra soluble e insoluble.....	13
Figura 8.	Probióticos, prebióticos y simbióticos: eficaces y seguros.	14
Figura 9.	Beneficios y propiedades de las lentejas.	15
Figura 10.	Almacenamiento de Granos y semillas.....	20
Figura 11.	Condiciones que afectan la latencia de las semillas en el almacén.....	21
Figura 12.	Microbiología en granos almacenados.....	23
Figura 13.	Enzimas de defensa	29
Figura 14.	Malondialdehído (MDA).....	32
Figura 15.	Cuadro metodológico para deterioro de semilla de lenteja.....	37
Figura 16.	Preparación del material biológico.....	38
Figura 17.	Muestras de lenteja (<i>Lens culinaris</i>) con diferentes tiempos de deterioro	38
Figura 18.	Germinación de lenteja deteriorada en cajas Petri.....	39
Figura 19.	Material para prueba de conductividad eléctrica	40
Figura 20.	Estufa ARSA® AR-290D usada para la determinación de humedad de las lentejas deterioradas.	41
Figura 21.	Incineración de muestras por método Kleem.....	42
Figura 22.	a) Etapa de digestión de proteínas, b) Etapa de destilación de proteínas y c) Etapa de titulación de proteínas.....	43
Figura 23.	Determinación de grasa para lenteja deteriorada.....	44
Figura 24.	Filtración de muestra con embudo Buchner.....	46
Figura 25.	Espectrofotómetro JENWAY® GENOVA-1709	48
Figura 26.	Determinación de digestibilidad <i>in Vitro</i> para lenteja deteriorada.....	49
Figura 27.	Plancha de calentamiento Barnstead Lab-Line 2050.....	52
Figura 28.	a) Determinación de almidón resistente para lenteja deteriorada y b) Lectura de almidón resistente en espectrofotómetro JENWAY® GENOVA-1709.....	55
Figura 29.	Determinación de fibra dietética para lenteja deteriorada	56

Figura 30.	Determinación de ácido fítico para lenteja deteriorada.....	58
Figura 31.	Coloración de muestras de taninos.	59
Figura 32.	Muestras de proteína soluble mediante método Lowry	61
Figura 33.	Lectura de carbonilos para lenteja deteriorada	61
Figura 34.	Extracto enzimático de lenteja deteriorada.....	64
Figura 35.	Lectura de POX para lenteja deteriorada en espectrofotómetro JENWAY® GENOVA-1709	65
Figura 36.	Lectura de CAT a 240nm.	66



RESUMEN

La lenteja (*Lens culinaris*) es un cultivo de bajo consumo en la parte Occidental del mundo, pero en Oriente, existen una gran variedad de platillos con lenteja, e incluso esta semilla es utilizada como sustituto de proteína animal debido a su alto porcentaje (24-30%) y buena calidad. Las lentejas contienen grandes cantidades de minerales, en particular Fe, Zn, Cu, Mn, Mo, Mg, P, Ca y S. Vitaminas como folato, tiamina (B1) y riboflavina (B2), la niacina, el ácido pantoténico y la piridoxina están presentes en cantidades significativas y son útiles para prevenir enfermedades como la anemia y las malformaciones. El consumo de esta legumbre en México es menor en comparación a otras leguminosas, especialmente frijol. Ya que, existen pocas variantes para su preparación y/o procesamiento que permitan aumentar su consumo y aprovechamiento. Como todos los granos, las lentejas se tienen que almacenar para consumirse cuando se necesitan, y si este almacenamiento no se hace adecuadamente se pueden dañar, el grado del daño depende del tipo de semilla y las condiciones de almacenamiento. Es por eso que, se planteó estudiar el efecto de un almacenamiento inadecuado de la lenteja (*Lens culinaris*) sobre su calidad nutrimental y funcional y la generación de estrés oxidativo. Las semillas de lenteja se pusieron en condiciones de deterioro acelerado (temperatura 40°C y HR 75%) por 0, 9, 18, 27, 36, 45 y 56 días para su posterior estudio mediante ensayos de germinación, conductividad eléctrica, análisis químico proximal, calidad nutrimental, compuestos antinutrimientales, calidad funcional, y pruebas de generación de estrés oxidativo.

Mediante pruebas de germinación y conductividad eléctrica se mostró que las semillas se deterioran al disminuir su porcentaje de germinación con el tiempo de almacenamiento, en cuanto a su composición química solo hubo aumento importante en la fibra cruda en comparación con la muestra control, una disminución en sus componentes nutrimentales como el triptófano y un aumento en los componentes antinutrimientales. Además de una disminución de su calidad funcional en fibra dietética y almidón resistente, y sí hubo generación de estrés oxidativo que provocó daño en proteínas y lípidos. Finalmente el sistema de defensa enzimático el cual se compone de catalasa, peroxidasa y superóxido dismutasa de las semillas de lenteja permaneció activo.



INTRODUCCIÓN

La lenteja (*Lens culinaris*) es uno de los cultivos más antiguos que existen, pues se reportan desde 13,000 a.C. Su nacimiento de esta legumbre se presume es de Oriente, principalmente en Asia menor (Yadav *et al.*, 2007). Este cultivo es anual y uno de los más tolerantes que existen debido a que soporta temperaturas extremas, suelos pobres y áridos, así como no requiere mucha agua para que el cultivo prospere (FAO, 2016).

Actualmente se cultiva principalmente en India, Pakistán, Egipto, Grecia, Italia, América del Norte, finalmente también se reportan cultivos en España y Marruecos (Yadav *et al.*, 2007). En México según SAGARPA, (2019) el principal productor es el estado de Michoacán siguiéndole Guanajuato y San Luis Potosí, sin embargo a partir del año 2019 no se tienen registros de cosecha de lenteja en ninguno de los tres estados productores.

Existen diversas variedades de lenteja, entre ellas se encuentran la amarilla, roja, pardina, puy y la lenteja verdina, esta última es la variedad que se consume principalmente en América Latina, este cultivo en la parte Occidental del mundo es muy poco consumido y existen escasas opciones de preparación, a pesar de que en su composición aporta importantes nutrientes al cuerpo humano por su consumo, ya que, en Oriente se consume incluso como sustituto de carne y productos pesqueros (FAO, 2016).

Es de suma importancia implementar el consumo de estas legumbres a la dieta de la población, ya que, por ser buena fuente de fibra, vitaminas y calidad proteica, es benéfica para la salud de la población (Santa Ana, 2019).

A lo largo de los años, los cultivos de granos y semillas han acompañado al hombre en su trayectoria, es importante destacar la importancia que tiene un buen almacenamiento de granos y semillas, ya que, un mal manejo de estos en su almacenamiento puede provocar graves daños al material biológico en cuestión, daños que muchas veces a simple vista no son notorios, sino hasta que este material pasa por una serie de pruebas y análisis químicos en laboratorio y es donde podemos notar el daño que estos han sufrido por un almacenamiento inadecuado (Yadav *et al.*, 2007). Además, el daño provocado en las semillas depende del tipo, la región donde se siembra y las condiciones ambientales, es por eso evaluar el material biológico con el que se piensa trabajar.



Por ello en el presente trabajo, se analizaron las lentejas (*Lens culinaris*) variedad verdina, cosecha 2019 que fueron sometidas a un deterioro acelerado durante 56 días a condiciones de HR 75% y temperatura 40°C. En ellas se llevaron a cabo pruebas de germinación, escape de electrolitos, análisis químico proximal, de su calidad nutrimental, antinutrimental, propiedades funcionales y la generación de estrés oxidativo todo esto para conocer el efecto del mal almacenamiento sobre dichas propiedades.



1. CAPÍTULO I. ANTECEDENTES



1.1 Definición de Legumbre.

Las legumbres (Figura 1) son semillas o frutos que crecen en vainas. El término, que procede del vocablo latino *legūmen*, también se utiliza para nombrar al fruto que producen las especies leguminosas. Se entiende por legumbres a las semillas secas de plantas leguminosas y se distinguen por su bajo contenido de grasa (CXS, 2007).

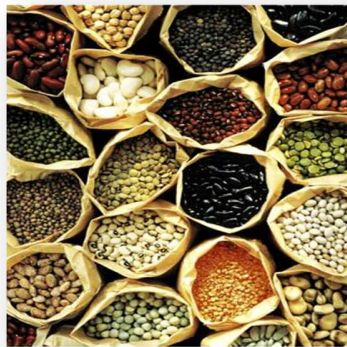


Figura 1. Legumbres.
Fuente: Araneda, 2022.

1.1.2. Clasificación de legumbres.

Las legumbres (Figura 1) son leguminosas anuales que producen entre 1-12 granos o semillas de tamaño, forma y color variables dentro de una vaina. Según la FAO, el término "legumbres" se limita a las plantas que se cultivan únicamente para obtener el grano (o semilla) seco (Araneda, 2022). En esta clasificación se hacen las siguientes exclusiones (Figura 2):

- ✓ Los cultivos cosechados verdes para alimento (denominados verduras),
- ✓ Los cultivos utilizados principalmente para la extracción de aceite (denominados semillas oleaginosas)
- ✓ Los cultivos leguminosos que se utilizan exclusivamente para fines de siembra.

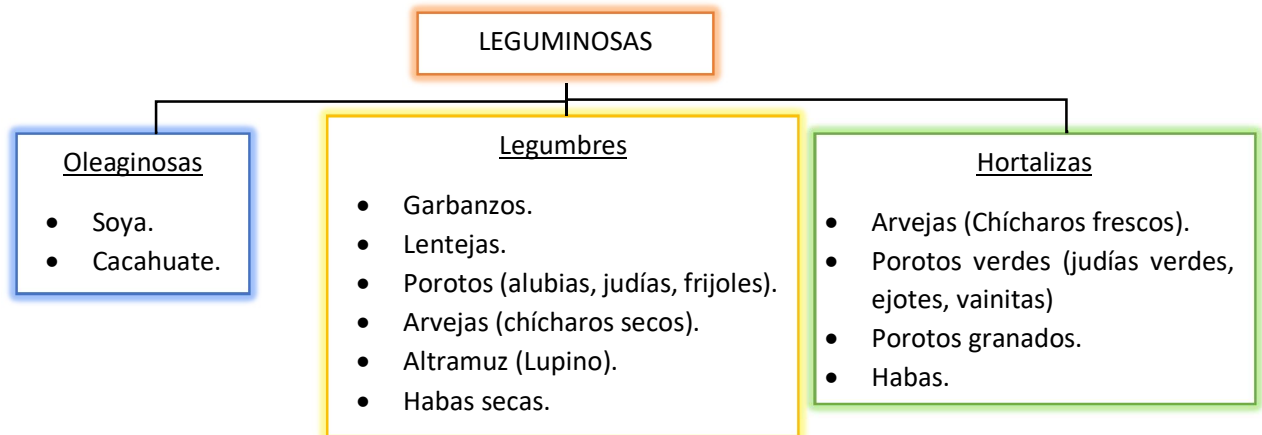


Figura 2. Clasificación de leguminosas.
Fuente: Araneda, 2022.

1.2. La lenteja.

La lenteja (*Lens culinaria*) es el cultivo de legumbres más antiguo con restos encontrados junto a la habitación humana hasta 13.000 años antes de Cristo. Su domesticación es igualmente antigua y probablemente fue uno de los primeros cultivos domesticados en el Viejo Mundo. Se cultiva principalmente en India, Bangladesh, Pakistán, Egipto, Grecia, Italia, países de la región mediterránea y América del Norte (Figura 3). También se está cultivando en la costa atlántica de España y Marruecos. El cultivo tiene una gran importancia en los sistemas basados en cereales debido a su capacidad de fijación de nitrógeno, sus semillas ricas en proteínas para la dieta humana y su paja para la alimentación animal (Yadav et al., 2007). En México los principales productores de lenteja son: Michoacán y Guanajuato con más del 60 y 30 por ciento, respectivamente, del producto nacional. (SADER, 2015).



Figura 3. Producción mundial de lentejas por país.
Fuente: AtlasBig, (s. f).



Su nombre científico es *Lens culinaris*, su nacimiento se presume en Oriente, principalmente en Asia menor. Con una enorme variedad cromática, del crema al negro, pasando por diversos tonos del amarillo al rojo, han tenido un gran crédito alimentario desde el Egipto de los faraones, donde adquirieron una jerarquía mítica y eran apreciadas por su capacidad para iluminar la mente, incluso en la vida de ultratumba, lo que evidencian los rastros de lentejas descubiertos por los arqueólogos en los monumentos mortuorios de los faraones. Su tolerancia a terrenos áridos y a temperaturas extremas, sus múltiples usos culinarios y la simbiosis sávida que alcanzan con casi cualquier ingrediente animal o vegetal han propagado su consumo por todo el mundo.

Se adjudica a la región del Oriente próximo y África del norte el origen de la lenteja y se trata de uno de los cultivos más antiguos. No hay legumbre más tolerante en terrenos áridos, necesita muy poca agua para que su cultivo prospere (entre 2,5 y 5 cm de agua a la semana) y soporta temperaturas extremas (FAO, 2016). La lenteja es un cultivo que se adapta bien a las diferentes condiciones agroclimáticas. Requiere una temperatura que oscile entre los 6 a 28°C y le perjudica bastante las nieves y los rocíos. Requiere un suelo con un pH comprendido entre 5.5 a 9 y es un cultivo muy sensible a la salinidad, los suelos deben ser profundos, sueltos, frescos y ricos en materia orgánica (Agricultura, s.f.).

1.2.1. Variedades de lenteja.

Como puede observarse en la figura 4b entre las variedades de lenteja se encuentran, las lentejas de color amarillo intenso que son menos conocidas que las rojas, aunque de sabor y cocción similar, mientras que las denominadas pardinas o francesas de entre 4 y 5 milímetros y color marrón o pardo rojizo, están bastante extendidas; la verdina presenta un color verde amarillento y es de tamaño inferior, mientras la rubia puede llegar a 9 milímetros de diámetro y es bastante más utilizada, con variedades de calidad excepcional como la rubia de La Armuña que se produce en España. También en Francia tiene especial prestigio la variedad de lenteja de Puy, procedente de la región de Auvernia y las lentejas de Umbria de color pardo dorado que están especialmente acreditadas en Italia (FAO, 2016).

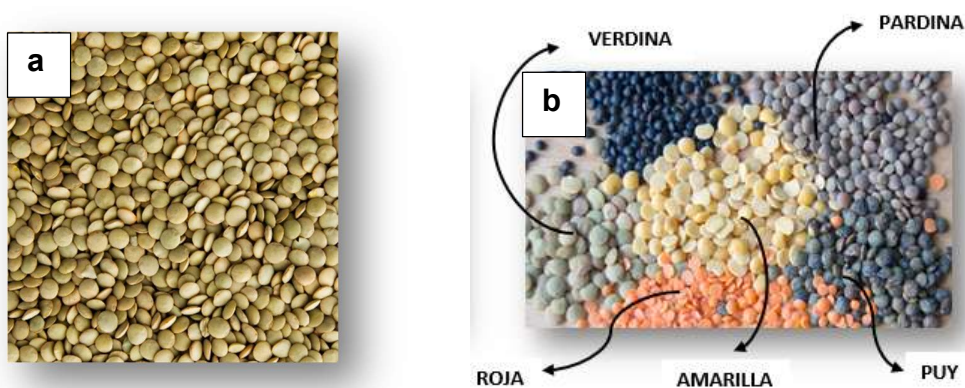


Figura 4. Lenteja a) variedad verdina, b) Diferentes variedades
Fuente: Verde orgánica, 2022; Uranda, 2020

1.2.2. Morfología.

Planta: Es una planta anual herbácea de la familia fabaceae, su taxonomía es la siguiente (Santa Ana, 2019):

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Fabales

Familia: Fabaceae

Subfamilia: Faboideae

Tribu: Fabeae

Genero: Lens

Especie: *L. culinaris*

Son plantas de tallo corto, débil y muy ramificado (15-75 cm), sus hojas son paripinnadas con zarcillos sencillos (Figura 5). Los folíolos son de pequeño tamaño, ovales y alargados (1-4 cm). Sus flores se desarrollan en racimos axiales, siendo generalmente de color blanquecino. Las flores pueden estar solas o en racimos, pueden ser blancas, rosas, rojas o violetas. Sus vainas son cortas, lisas, aplastadas, conteniendo normalmente dos semillas, y terminadas en un apéndice en forma de gancho (Enciso y Duarte, 2010).



Los tipos de semilla pequeña desarrollan sistemas radiculares superficiales, mientras que los tipos de semillas grandes desarrollan raíces profundas, lo cual se tiene que tener en cuenta a la hora de elegir un cultivar de semilla grande o pequeña, dependiendo del tipo de suelo existente en la zona de cultivo.

Se clasifican como plantas de día largo, aunque existen cultivares de día neutro (Nadal, 2004).



Figura 5. Fisiología de la planta de lenteja

Fuente: Enciso y Duarte, 2010.

Semilla: La estructura de la semilla de la lenteja (Figura 6) es similar a la de las demás leguminosas, pero su envoltura es más delgada. Los componentes básicos de la semilla de lenteja son tres (Bhatty,1988):

- ✓ **La envoltura:** Se encuentra en un (8%) se divide en dos capas, testa o envoltura externa y tegumento o envoltura interna
- ✓ **Cotiledones:** Se encuentra en un 90%. El cotiledón está constituido mayoritariamente por almidón.



- ✓ **Embrión:** Esta en un 2%, incluyendo la radícula, plúmula y eje embrionario. La radícula contiene el embrión, el cual tomará las sustancias necesarias para su desarrollo del cotiledón. La plúmula es la parte desde la que se formarán el tallo y las primeras hojas de la lenteja. El eje embrionario, es aquella parte por donde puede pasar agua directamente al embrión (Mancilla, 2022).

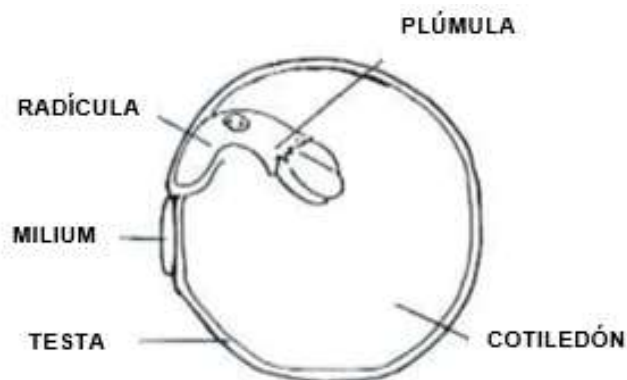


Figura 6. Estructura de la semilla de lenteja

Fuente: Mancilla, 2022

1.2.3. Producción y Consumo.

La producción de lenteja en México según SAGARPA se divide en riego y de temporada. En el año 2019 la producción en México (tabla 2) el estado con mayor producción fue Michoacán, en los años posteriores se vio afectada la producción, ya que no hay registros de cultivos de lenteja de acuerdo a la pandemia el sector agricultor se vio afectado.

También la poca producción de este quiere decir que la lenteja no es un cultivo muy consumido en este país. En nuestro país se suele usar a la lenteja como sopa principal para acompañar a nuestros platillos fuertes y también es utilizada en diferentes tipos de ensaladas (SADER, 2015).

Tabla 1. Producción de lenteja de año 2019 en México

ENTIDAD	PRODUCCIÓN (Ton)	2019
Guanajuato	493.80	
Michoacán	8,974.72	
San Luis Potosí	0.00	

Fuente: SAGARPA, 2019.



La lenteja en México tiene un consumo menor al de otras leguminosas, una de ellas es el frijol, además como se ha mencionado anteriormente no existen variantes para su preparación y/o procesamiento que permitan aumentar su consumo y aprovechamiento. Así pues, es necesario implementar alternativas que promuevan el consumo de lenteja o sus derivados (Santa Ana, 2019).

1.2.4. Composición química.

Las lentejas son ricas en proteínas, fibras, almidón, oligosacáridos, minerales, ácidos grasos y vitaminas (Tabla 1). Las lentejas tienen un excelente perfil de macro y micronutrientes. Entre los cuales se encuentran las proteínas y su alto contenido de fibra alimentaria. En cuanto a los micronutrientes, las lentejas son fuente de magnesio, selenio y folatos y poseen alto contenido de hierro, zinc, potasio, tiamina, niacina y vitamina B6 (Enjamio *et al.*, 2022). Las lentejas son ricas no sólo en macronutrientes como puede observarse en la tabla 1, incluido el almidón (43–51 %, base seca), proteínas (24–30 %) y fibra dietética (18–20 %), sino también en micronutrientes, incluidas vitaminas, minerales, y fitoquímicos. El contenido de grasa de las lentejas suele ser inferior al 2,5 %. Las lentejas son un alimento de bajo índice glucémico debido a su relativamente baja digestibilidad del almidón, lo que las hace beneficiosas para el control insulínico (Nadal, 2004).

Por estas razones, las lentejas se conocen desde hace mucho tiempo como un producto de bajo costo y un sustituto perfecto de la carne. Los macronutrientes, en particular las proteínas y los carbohidratos, son los principales constituyentes de las lentejas, seguidos de las fibras dietéticas. Se han identificado micronutrientes, especialmente compuestos fenólicos, de alta actividad antiinflamatoria y antioxidante.

Además, muchos estudios de intervención proponen que el consumo de legumbres está inversamente relacionado con la frecuencia de varias enfermedades, incluidas enfermedades cardíacas, diabetes, cáncer, envejecimiento y enfermedades cardiovasculares. Además, las lentejas pueden aportar inhibidores de proteasa, que son proteínas biológicamente activas (Rajhi y Baccourri, 2022).

Se consideran fuente pobre de grasas: esta fracción incluye ácidos grasos saturados (16,7%), ácidos grasos monoinsaturados (23,7%) y ácidos grasos poliinsaturados (58,8%). Durante mucho tiempo, las lentejas se han considerado un alimento perfecto para los seres humanos que padecen desnutrición y, en especial, deficiencia de hierro (Rajhi y Baccourri, 2022).

Las lentejas contienen grandes cantidades de minerales, en particular Fe, Zn, Cu, Mn, Mo, Mg, P, Ca y S. Vitaminas como folato, tiamina (B1) y riboflavina (B2), la niacina, el ácido pantoténico y la piridoxina están presentes en cantidades significativas y son útiles para prevenir enfermedades como la anemia y las malformaciones (Rajhi y Baccourri, 2022).

Las lentejas enteras y decorticadas (descascaradas) se han utilizado en la fortificación de alimentos como una aplicación potencial para reducir la deficiencia de hierro en humanos (Rajhi y Baccourri, 2022).

Las lentejas (Figura 4a) son especialmente importantes en la dieta de los grupos de población de bajos ingresos en los países en desarrollo, debido a que representan un sustituto en el consumo de proteínas de origen pecuario y pesquero (Santa Ana, 2019).

Las proteínas contenidas en las lentejas son deficientes de aminoácidos como metionina y cisteína, lo que limita su aprovechamiento por el organismo, al combinarse con alimentos que contengan estos aminoácidos como el arroz, el trigo o el mijo, se convierten en proteínas de alto valor biológico de origen vegetal. Respecto a la proteína proveniente de alimentos de origen animal, la proteína proveniente de lentejas posee la ventaja de que éstas no se acompañan de colesterol ni grasas saturadas y son fáciles de digerir (Santa Ana, 2019).

Tabla 2. Composición química de la lenteja.

COMPONENTE	%
Humedad	8.7
Proteínas	24-30
Aminoácidos	
Histidina	1.9
Lisina	5.8
Leucina	6.6
Isoleucina	2.8
Metionina + Cisteína	2.5
Fenilalanina + Tirosina	6.3
Treonina	3.4
Triptófano	1.1
Valina	3.5
Lípidos	1.8
Carbohidratos	54
Fibra	11.7
Cenizas	2.5

Fuente: (Santa Ana, 2019).

Fibra: Las legumbres, en general, son beneficiosas por su alto contenido de fibra. La fibra soluble se digiere a nivel del colon por la flora bacteriana, liberando diversos ácidos grasos de cadena corta como puede ser el butirato. La fibra insoluble, que se encuentra en menor medida que la fibra soluble, hace que aumente el tránsito intestinal y al no verse digerida por la flora, no provoca flatulencia (Enjamio *et al.*, 2022).



- ✓ **Fibra soluble:** Retiene el agua y se vuelve gel durante la digestión e igualmente retarda la digestión y la absorción de nutrientes desde el estómago y el intestino. Este tipo de fibra se encuentra en alimentos tales como el salvado de avena, la cebada, las nueces, las semillas, los frijoles, las lentejas, los guisantes y algunas frutas y hortalizas (Fibra soluble e insoluble, 2020).
- ✓ **Fibra insoluble:** Parece acelerar el paso de los alimentos a través del estómago y los intestinos y le agrega volumen a las heces. Este tipo de fibra se encuentra en alimentos tales como el salvado de trigo, las hortalizas y los granos enteros (Fibra soluble e insoluble, 2020).



Figura 7. Fuentes de fibra soluble e insoluble.

Fuente: (s. a), 2020

Carbohidratos: Las legumbres de grano son una buena fuente de carbohidratos disponibles (almidón y oligosacáridos). También proporcionan una gran cantidad de carbohidratos estructurales, debido principalmente a un alto contenido de fibra dietética (FD) en comparación con otros alimentos vegetales ricos en fibra (Aguilera *et al.*, 2009).

El almidón representa el carbohidrato principal en la semilla de leguminosas (22–45%), aunque la tasa de digestión del almidón es, tanto *in vitro* como *in vivo*, inferior al de los cereales. Una proporción de almidón llamado almidón resistente escapa a la digestión completa y tiene propiedades similares a las fibras fermentables (Aguilera *et al.*, 2009).

La lenteja contiene cantidades significativas de carbohidratos prebióticos (Figura 8) o carbohidratos de baja digestibilidad, incluidos alcoholes de azúcar (SA), oligosacáridos de la familia de la rafinosa (RFO), fructooligosacáridos (FOS) y almidón resistente (RS), que brindan importantes beneficios para la salud humana al modular el microbioma intestinal. (Shiva *et al.*, 2018).



Los alcoholes de azúcar (también conocidos como polioles, polialcoholes y alditoles) incluyen sorbitol, manitol y galactinol. Los oligosacáridos no digeribles incluyen: (Shiva *et al.*, 2018).

- ✓ RFO (rafinosa, estaquiosa, y verbascosa)
- ✓ FOS (kestosa y nistosa).

Estos carbohidratos de baja digestibilidad son fermentados en el intestino grueso por las bacterias del intestino posterior, y luego estos compuestos se utilizan como sustrato para su crecimiento y actividad. Las concentraciones de carbohidratos de baja digestibilidad de las lentejas cambian después de procesarlas y cocinarlas por un corto tiempo (Shiva *et al.*, 2018).



Figura 8. Probióticos, prebióticos y simbióticos: eficaces y seguros.

Fuente: Merino. 2022.

Cenizas: Entre los minerales de la lenteja se destaca el calcio, magnesio, potasio, fósforo, zinc y hierro (Figura 9) aunque estos dos últimos son de peor absorción que el de los alimentos de origen animal. En vitaminas, es interesante su contenido en vitamina B1 (tiamina), B3 (niacina), B6 y folatos, este especialmente en los garbanzos. (Enjamio *et al.*, 2022).



Figura 9. Beneficios y propiedades de las lentejas.
Fuente: SASMI, 2023.

1.2.5. Componentes antinutrimientales.

Las semillas de cereales y leguminosas son alimentos completos; razón por la cual durante muchos años han constituido la fuente principal para el suministro de energía y proteína dietaria humana, especialmente en los países pobres; sin embargo, algunas semillas, especialmente las leguminosas presentan en su composición sustancias antinutricionales (De Dios *et al.*, 2009).

El término antinutrientes se utiliza para calificar a aquellos compuestos que afectan el valor nutricional de algunos alimentos, especialmente semillas, pues dificultan o inhiben la asimilación de nutrientes que provienen de alimentos generalmente de origen vegetal (proteínas y minerales) (De Dios *et al.*, 2009).

Desde el punto de vista nutricional, las sustancias antinutrientes de origen natural, se clasifican en función del tipo de nutriente con el que interfieren. Se distinguen los siguientes (García, 2014):

- ✓ Inhibidores de proteasas: Sustancias que interfieren en la utilización digestiva o metabólica de las proteínas.
- ✓ Inhibidores de glucosidasas: Inhibidor de alfa amilasa.
- ✓ Sustancias antiminerales: Sustancias que interfieren con la asimilación de elementos minerales.



- ✓ Sustancias antivitaminas: Sustancias que inactivan o aumentan la necesidad de vitaminas.

Estos factores son de naturaleza variada y pueden llegar a ser tóxicos o causar efectos fisiológicos poco deseables como la flatulencia; distensión estomacal, afectaciones pancreáticas, aglutinación de glóbulos rojos, disminución en la asimilación de nutrientes; los factores antinutricionales son sustancias naturales no fibrosas, generadas por el metabolismo secundario de las plantas como mecanismo de defensa a situaciones estresantes o contra el ataque de mohos, bacterias, insectos y aves. Un ejemplo de estos son los taninos, los cuales son sintetizados durante el desarrollo de la semilla y la planta las utiliza como defensa frente a hongos, insectos y nematodos (De Dios *et al.*, 2009).

Otro factor antinutricional es el ácido fítico, que es una sustancia presente en alimentos de origen vegetal, constituyendo la principal forma de almacenamiento de fósforo en semillas y su composición varía de una planta a otra, ya que la composición depende de diversos factores como por ejemplo las técnicas empleadas en el cultivo (González, 2020). El ácido fítico es considerado un factor antinutricional debido a su capacidad de interferir en la absorción de los distintos nutrientes, como consecuencia de su gran afinidad por diversos cationes formando quelatos; además puede unirse a más de un catión a la vez debido a la presencia de seis grupos fosfatos, por lo que generalmente lo encontramos en forma de sal mixta. Por lo tanto, afecta a la absorción de nutrientes en el intestino humano y a su biodisponibilidad, pudiendo producirse un déficit de minerales (González, 2020).

También existen enzimas de la familia de quimitripsina, de las cuales, las tres más estudiadas son: quimitripsina, tripsina y elastasa. Estas tres proteasas son el resultado de un proceso de evolución divergente y difieren en su especificidad. Los inhibidores de proteasas son compuestos de naturaleza proteica que inhiben las 4 enzimas proteolíticas al unirse al sitio activo de la enzima, inhibiendo parcial o totalmente la hidrólisis de las proteínas de la dieta (García, 2014).

Los inhibidores de proteasas más conocidos son los que actúan sobre la tripsina (García, 2014), que se encuentran en leguminosas. En presencia de una proteasa y un sustrato producen una notoria disminución en la velocidad de la reacción catalizada por la enzima (Quicazán y Caicedo, 2011). Estas globulinas son capaces de inhibir la tripsina y la quimitripsina pancreática, impidiendo la proteólisis digestiva y aumentando las pérdidas de nitrógeno por heces (García, 2014).

La tripsina es utilizada como modelo dentro de las proteasas serínicas. Es una endopeptidasa que presenta alta especificidad hidrolizando enlaces peptídicos cuyo carboxilo corresponde a una arginina o lisina, excepto cuando el siguiente residuo es una prolina.



1.2.6. Componentes funcionales.

Fibra dietética: Las legumbres contienen varios tipos de fibra, incluidos los polisacáridos solubles e insolubles de cadena larga, los galactooligosacáridos y el almidón resistente (Brummer *et al.*, 2015).

A medida que ha aumentado el conocimiento sobre el papel de la fibra dietética en la prevención de enfermedades y la mejora de la salud, también ha aumentado el interés por los cultivos de leguminosas. Las legumbres son una rica fuente de fibra dietética soluble e insoluble y proteína vegetal. Estos beneficios para la salud pueden deberse en parte a la composición y el comportamiento de los polisacáridos no amiláceos, constituyendo las paredes celulares de las legumbres. Por lo tanto, es importante comprender la composición y las propiedades fisicoquímicas de la fracción de fibra dietética. Los perfiles de galacto-oligosacáridos de legumbres cocidas también son de interés. Anteriormente, estos carbohidratos de bajo peso molecular se consideraban indeseables porque causaban flatulencias a las personas que no los consumían regularmente. Sin embargo, cada vez se reconoce más que tienen un efecto prebiótico, ya que fomentan el crecimiento de bacterias probióticas que producen ácidos grasos de cadena corta beneficiosos para la salud (Brummer *et al.*, 2015).

- ✓ Fibra dietética insoluble (IDF): Es una mezcla diversa de polisacáridos de diferentes tamaños. Los azúcares que componen la fracción de fibra insoluble sugieren un gran componente de celulosa. (Brummer *et al.*, 2015).
- ✓ Fibra dietética soluble (SDF): Exhiben una gama de viscosidades según el tipo de pulso (Brummer *et al.*, 2015).

Almidón resistente: El almidón resistente (RS) se define como la suma de almidón y sus productos de degradación que no se absorbe en el intestino delgado de individuos sanos y puede ser total o parcialmente fermentado en ácidos grasos de cadena corta por microorganismos en el colon (Zhen *et al.*, 2018)

El almidón resistente no se puede digerir fácilmente como el almidón común, lo que lleva a su gran importancia biológica, incluida la prevención de enfermedades gastrointestinales, la reducción de la respuesta a la insulina y los niveles de colesterol sérico, la promoción del crecimiento bacteriano beneficioso y la promoción de la absorción de minerales. (Zhen *et al.*, 2018)

Las lentejas son una rica fuente de almidón resistente, el nivel de RS varía entre 11,4% y 14,9% para diferentes cultivares, independientemente de los métodos de procesamiento, el almidón resistente en las lentejas procesadas aún mantiene un nivel relativamente alto en comparación con otros alimentos como los cereales y la papa, que normalmente muestran un contenido de RS significativamente reducido después del procesamiento (Zhen *et al.*, 2018).

La resistencia del almidón contra la hidrólisis por enzimas digestivas en el tracto gastrointestinal podría atribuirse a una variedad de razones, ya que puede ser



físicamente inaccesible (RS_1 y RS_2), retrogradado (RS_3) o químicamente modificado (RS_4). El almidón resistente de las semillas de lentejas crudas generalmente se encuentra en forma de RS_1 , que está protegido de la digestión debido al atrapamiento físico en las semillas. RS_1 es estable al calor y se espera que se encuentre en lentejas recién cocinadas. Simultáneamente, RS_3 podría formarse tras la retrogradación, lo que probablemente contribuya al nivel relativamente alto de RS en las lentejas procesadas (Zhen *et al.*, 2018).

Capacidad antioxidante: La capacidad antioxidante total (CAT) se define como el potencial de una sustancia o compuesto para inhibir o dificultar la oxidación de un sustrato hasta en cantidades muy pequeñas (< 1%, comúnmente 1-1,000 mg/L). Su medición es útil para valorar la calidad de un alimento, la cantidad de antioxidantes en un sistema, o la biodisponibilidad de compuestos antioxidantes en el cuerpo humano (Benitez *et al.*, 2020).

La capacidad antioxidante de un alimento depende de la naturaleza y concentración de los antioxidantes naturales presentes en él. Algunos de estos componentes son: (De Carrasco y Zelanda, 2008).

- ✓ Carotenoides: El betacaroteno y otros pigmentos rojos, naranjas y amarillos llamados carotenoides se consideran antioxidantes. Aportan aproximadamente el 50% de la vitamina A necesaria en la dieta (Betacarotenos, 2022).
- ✓ Luteína y Zeaxantina: Luteína y zeaxantina son pigmentos de color amarillo, solubles en grasa, que se concentran en la macula, que es la parte central de la retina, la que nos permite tener visión aguda. El papel fundamental de la luteína y la zeaxantina es evitar la formación de radicales libres y de moléculas oxidativas, que son las causantes de los daños en las membranas de las células de los tejidos oculares. Su función es proteger a la macula y al cristalino de la acción oxidante de la luz, ya que, reducen el daño oxidativa provocado por la luz azul (Troxler y Reardon, 2022).
- ✓ Licopeno: El licopeno es un carotenoide, principal pigmento responsable de la característica coloración roja del tomate. Todos los carotenoides son derivados del licopeno, que presenta una estructura acíclica, pero a diferencia de otros carotenoides como el α - y β -caroteno, el licopeno no tiene actividad de pro **vitamina A** debido a que carece de la estructura de anillo γ -iónico común en estos carotenoides. El licopeno se distribuye ampliamente en el cuerpo humano. Es uno de los mayores carotenoides que se encuentran en el suero humano, se encuentra en varios tejidos del cuerpo humano, tales como hígado, riñón, glándulas renales, testículos, ovarios y próstata (Waliszewski y Blasco, 2010).
- ✓ Vitamina A: La vitamina A forma parte de una de las líneas de defensa del organismo ante los radicales libres. El mecanismo de acción antioxidante comprende una acción barredora de radicales simple de oxígeno y radical thioil y podría estar relacionada con los procesos que involucran expresión genética y diferenciación celular. (Márquez *et al.*, 2002).



- ✓ Vitamina C: La vitamina C o ácido ascórbico (AA) es el principal antioxidante no enzimático hidrosoluble presente en el plasma. Las principales funciones de la vitamina C son neutralizar los radicales libres, reducir el hierro, regenerar la vitamina E y actuar como cofactor de enzimas α -cetoglutarato dioxigenasas. Estas enzimas participan en la síntesis de neurotransmisores (Villagrán *et al.*, 2019).
- ✓ Vitamina E: La vitamina E funciona en general como un antioxidante biológico, previniendo la oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados y de las proteínas, por lo que es considerada como un importante elemento protector en el desarrollo de enfermedades relacionadas con los procesos oxidativos (Márquez *et al.*, 2002).

Además de sus destacadas propiedades nutricionales, las semillas de lenteja tienen una alta capacidad antioxidante en comparación con otras especies de leguminosas de grano, dada la presencia de compuestos fenólicos específicos en su composición (Liberal *et al.*, 2023).

Fenoles: Se ha demostrado que el daño oxidativo, causado por el exceso de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, es la causa de muchos trastornos como el cáncer, la diabetes y la inflamación. Por lo tanto, la propiedad fundamental de los compuestos fenólicos de los alimentos es la actividad antioxidante, que es importante para la protección de la salud (Świeca y Gawlik-Dziki, 2015).

Los efectos beneficiosos de las legumbres se deben a su excelente valor nutricional, pero también son una rica fuente de antioxidantes naturales como los compuestos fenólicos, la vitamina C y los tocoferoles. Los compuestos fenólicos pueden desempeñar un papel clave al eliminar los agentes reactivos de oxígeno nocivos y proteger las células del daño oxidativo relacionado con el envejecimiento y los trastornos relacionados con la edad. Además, estudios *in vitro* e *in vivo* han demostrado que los compuestos fenólicos pueden exhibir propiedades antiateroscleróticas y antiinflamatorias, y pueden inhibir el crecimiento de líneas celulares de cáncer humano (Dueñas *et al.*, 2016).

1.3. Almacenamiento de granos y semillas.

1.3.1. Definición de almacenamiento.

Se refiere a concentrar la producción en lugares seleccionados; en tanto que la conservación implica proporcionar a los productos almacenados las condiciones necesarias para que no sufran daños y así evitar la disminución de su calidad y volumen (Agencia de servicios a la comercialización y desarrollo de mercado agropecuario, 2018).

Los granos y semillas demandan cuidados especiales por su valor económico, alimenticio, agrícola e industrial (Figura 10) por lo que resulta necesario recurrir a



su almacenamiento y conservación. (Agencia de servicios a la comercialización y desarrollo de mercado agropecuario, 2018).



Figura 10. Almacenamiento de Granos y semillas.

Fuente: Agencia de servicios a la comercialización y desarrollo de mercado agropecuario, 2018

Para analizar, desde el punto de vista técnico, un proceso de conservación hay que empezar conociendo las características del producto que se debe conservar, especialmente las relacionadas con su evolución en el tiempo (Marquez y Pozzolo, 2012).

Las propiedades físico-químicas explican el comportamiento del grano en condiciones de almacenamiento, especialmente su conductividad térmica y su higroscopicidad (Marquez y Pozzolo, 2012).

El principio de un buen almacenamiento y conservación de granos y semillas es el empleo de bodegas secas, limpias y libres de plagas; donde se almacenen granos o semillas secas, enteras, sanas y sin impurezas. Independientemente del tipo de almacén o de recipiente que se utilice, el producto almacenado debe mantenerse fresco, seco y protegido de insectos, pájaros, hongos y roedores (Hernández y Carballo, 2017).

El grano es un material higroscópico, o sea que ajusta su humedad a la de la atmósfera que lo rodea en función de la temperatura. Esto es la consecuencia de que una parte del agua en la materia se encuentra ocupando poros capilares.

La humedad y la temperatura son las dos variables que más afectan la actividad de los granos y la de los organismos que viven en el granel. A mayor temperatura y humedad, mayor actividad microbiana. El manejo del grano húmedo es un aspecto que frecuentemente constituye un problema a la hora de cosechar, y ese problema puede ser tanto económico como logístico (Blanco-Valdés *et al.*, 2016).

Esta actividad de grano almacenado está condicionada por su temperatura y su humedad (Figura 11). En condiciones de poca humedad y baja temperatura el grano



ralentiza su actividad vital. A medida que aumenta la temperatura y el contenido de humedad, la actividad vital aumenta por la acción de las enzimas y de la microflora que impregna las semillas, que aprovechan como alimento las sustancias de reserva que contiene el grano, lo que se pone de manifiesto con la respiración y la germinación del grano (Marquez y Pozzolo, 2012).



Figura 11. Condiciones que afectan la latencia de las semillas en el almacén

Fuente: Sua linda, 2016

Un sistema de secado debe permitir eliminar la humedad excesiva de los granos a corto plazo y asegurar su conservación. Por otra parte, el poder contar con un método de conservación que logre asegurar y mantener la calidad de los granos es de gran importancia, pues garantiza satisfacer los abastecimientos de alimentos a la población y los animales por periodos prolongados, lo cual se ha visto amenazado por el incremento de la población humana que se observa en los últimos años. Por estas razones, es necesario el desarrollo de tecnologías modernas que permitan almacenar grandes volúmenes de granos y mayor innovación del potencial productivo (Blanco-Valdés, *et al.*, 2016).

1.3.2. Métodos de almacenamiento.

- ✓ Almacén en sacos: Los sacos se hacen de yute, henequén, fibras locales y sintéticas. Son relativamente costosos, tienen poca duración, su manipulación es lenta y no proporcionan buena protección contra la humedad, insectos y roedores. Su rotura ocasiona pérdidas del producto almacenado y facilita la infestación por plagas (Hernández y Carballo, 2017). Los sacos deben estibarse sobre plataformas de metal, madera o de ladrillos, evitando con ello el contacto directo con el suelo. Debe dejarse una



separación con relación a las paredes del almacén (Hernández y Carballo, 2017).

- ✓ Almacén a granel: El almacenamiento a granel es una práctica común. Este método tiene la ventaja que es mecanizable, aunado a que la manipulación de granos y semillas es rápida. Por el contrario, la posibilidad de ataque por roedores aumenta y hay poca protección contra la re infestación. (Hernández y Carballo, 2017).
- ✓ Almacenamiento hermético: Se almacena el producto en recipientes que evitan la entrada de aire y humedad al producto. En estas condiciones, la respiración de la semilla y de los insectos (cuando los hay) agota el oxígeno existente, provocando la muerte de estos últimos y la reducción de la actividad de la semilla, por lo que el almacenamiento puede durar mucho tiempo sin que exista deterioro. El nivel de humedad de los granos o semillas por almacenar debe ser menor del 9% (Hernández y Carballo, 2017).

1.3.3. Tipo de almacenes.

Existen almacenes rústicos, planos y modernos. Los dos primeros son estructuras que se utilizan para almacenar el grano o la semilla en cantidades y por periodo de tiempo relativamente corto, que puede ser desde unos cuantos meses hasta un año aproximadamente. Este tipo de almacenes son los que tradicionalmente se utilizan en el medio rural.

Los almacenes modernos se utilizan cuando se almacenarán grandes volúmenes; cuentan con instalaciones mecánicas que aseguran un adecuado manejo y una eficiente conservación de granos y semillas durante su almacenamiento, que por lo general, dura desde uno hasta varios años (Hernández y Carballo, 2017).

Existen diferentes factores que pueden dañar a los granos y semillas, por ejemplo los factores bióticos y abióticos.

1.3.4. Factores bióticos y abióticos.

Bióticos:

- ✓ Plagas/insectos: Existen numerosas especies de palomillas y gorgojos que atacan a los granos y semillas almacenados, y basta con unos pocos insectos bajo las condiciones adecuadas (por ejemplo, en grano caliente y húmedo) para producir el calor y la humedad suficientes para que se desarrollen mayores poblaciones de insectos. Al aumentar la población de insectos se producirá mayor calor y humedad y así sucesivamente; favoreciéndose el desarrollo de hongos y bacterias (Hernández y Carballo, 2017).
- ✓ Hongos: Los hongos producen sustancias llamadas micotoxinas, las cuales pueden resultar altamente tóxicas para organismos de sangre caliente, incluyendo desde luego el hombre.



- ✓ **Roedores:** Los roedores también provocan pérdidas cuantiosas en granos y semillas almacenados, no sólo porque los consumen en grandes cantidades, sino también por contaminar con sus pelos y excreciones como heces fecales y orina (Hernández y Carballo, 2017).



Figura 12. Microbiología en granos almacenados.

Fuente: Fajardo *et al.*, 2012

Abióticos: Entre los factores que influyen en la longevidad de la viabilidad de semillas, se citan el tiempo en almacenamiento y condiciones de almacenamiento (Sánchez *et al.*, 2011).

- ✓ **Temperatura:** El microclima que rodea al grano es afectado por la temperatura del ambiente que lo rodea. Esta temperatura cambia de acuerdo a los efectos de la radiación solar. Dependiendo de los materiales de construcción del almacén, la variación será más o menos pronunciada. (Factores físicos que afectan al grano almacenado, 2023).

Las temperaturas bajas mantienen a las semillas vivas por años. La viabilidad de las semillas varía con los años, desde uno hasta más de 10, y no la pierden en forma repentina, sino que disminuye progresivamente a lo largo del tiempo y depende de las condiciones de almacenamiento (Sánchez *et al.*, 2011).

La germinación de la semilla es especialmente afectada por la temperatura, según Barros *et al.*, (2020) en su estudio de temperaturas óptimas de germinación concluye que un rango entre 30°C-35°C aumenta la velocidad y tiempo de germinación de la semilla. Temperaturas de almacenamiento a más de 40°C pueden reducir la capacidad de germinación rápidamente. En sistemas tradicionales de manejo poscosecha de granos, la temperatura es a menudo poco controlada afectando a la semilla. Cuando se secan granos al sol, las temperaturas pueden exceder los 40°C esto puede afectar la



germinación de la semilla si esta no se voltea frecuentemente para lograr un secado uniforme (Factores físicos que afectan al grano almacenado, 2023). El proceso de secado de semilla debe ser lento, con temperaturas máximas de 35 °C. De esta manera se evita el calor excesivo y la salida muy rápida del agua, lo cual produce daños al embrión (Araya *et al.*, 2013).

Los microorganismos (hongos) que atacan el grano almacenado se desarrollan rápidamente a temperaturas mayores de 25°C, con un rango óptimo entre 28 y 32°C si se encuentra humedad disponible. Según se desarrollen, la temperatura irá en aumento debido a su metabolismo y crecimiento, causando la descomposición del grano. Los hongos mueren cuando la temperatura del grano está fuera del margen en que se efectúa su crecimiento. Su muerte es rápida si la temperatura sobrepasa su máximo de tolerancia y lenta, si está por debajo de la mínima. Es importante mantener el grano a temperaturas inferiores de las óptimas para evitar el desarrollo de los hongos y que este no se dañe. En almacenes como los silos metálicos esto se obtiene al colocarlos en ambientes frescos y bajo techo, mientras menos tiempo permanezca el grano a temperaturas de óptimo desarrollo de hongos mayor y mejor será su almacenamiento. (Factores físicos que afectan al grano almacenado, 2023). La temperatura también tiene un efecto importante en el desarrollo de insectos. A bajas temperaturas, su desarrollo y reproducción es despacio o retardado, su mortalidad es relativamente alta y su actividad también baja. Si la temperatura sube, la tasa de desarrollo aumenta, la actividad de los insectos se incrementa, baja la mortalidad y como consecuencia sus números aumentan rápidamente. Todas las especies de insectos tropicales importantes de almacén se desarrollan en un rango óptimo de temperatura entre 25 y 35°C. Temperaturas de almacenamiento debajo de 20°C reducen su tasa de crecimiento a puntos tan bajos que a los niveles de daños son casi insignificantes. Temperaturas inferiores a 5°C pueden erradicar las poblaciones de la mayoría de insectos, aunque sorprendentemente algunas especies son resistentes. Pocas especies pueden resistir temperaturas mayores de 45°C, la mayoría muere rápidamente en estas condiciones (Factores físicos que afectan al grano almacenado, 2023).

- ✓ Humedad: En la semilla se presentan cambios fisiológicos o envejecimiento asociado a la clase de semilla, y su conservación depende de las condiciones ambientales de almacenamiento, primordialmente de la temperatura y la humedad (Sánchez *et al.*, 2011).

Un contenido de humedad del cuatro al seis por ciento es favorable para un almacenamiento prolongado, o un contenido mayor si se reduce la temperatura (Sánchez *et al.*, 2011).

Ya que bajo condiciones de alta humedad se favorece el desarrollo de plagas afectando la calidad del grano y por consiguiente la economía. En algunos granos la humedad es uno de los factores principales que influyen en el rendimiento industrial. Los granos se deben guardar limpios, secos (13,5 % de humedad de recibo) y sin daño mecánico, con lo cual el riesgo de deterioro



es mínimo. Para esto, se debe considerar el acondicionamiento, el almacenamiento y el control de calidad de los granos durante esta etapa (Blanco-Valdés *et al.*, 2016).

En el caso de los cereales un contenido de humedad menor del 14% es aceptable para el almacenamiento de 1 año o más; este contenido en las leguminosas se reduce a un 12% o menos (Factores físicos que afectan al grano almacenado, 2023).

- ✓ Presión de oxígeno: La respiración de los granos, los insectos y microorganismos asociados a ellos, involucra el uso de oxígeno. Mientras menor sea el contenido de oxígeno de un almacén, menor será la respiración del grano y la actividad de los insectos y microorganismos reduciéndose sus efectos de daño. Por lo anterior deben utilizarse estructuras herméticas como silos metálicos. En estos casos los niveles de oxígeno pueden reducirse al sellar completamente la estructura y permitir que la respiración del grano, insectos y microorganismos consuma todo el oxígeno disponible. No sólo se deben reducir los niveles de oxígeno a concentraciones mínimas, sino que se deben mantener bajos, requiriendo así de estructuras especiales a prueba de escapes, pequeñas cantidades de semillas pueden ser almacenadas en pequeños envases sellados si se les da la atención debida. Los envases deben estar hechos de material impermeable al aire y a la humedad. No deben tener agujeros y deben estar sellados con un material que impida cualquier movimiento de aire, por ejemplo: cera, cinta especial y otros (Factores físicos que afectan al grano almacenado, 2023).
- ✓ Estado del grano: En su estado entero, sano y limpio presentan resistencia a la descomposición ocasionada por microorganismos e insectos. Cuando su capa protectora está dañada o el grano está quebrado, se verán más susceptible al ataque de estas plagas aunque se almacene bajo condiciones ambientales favorables. El grano sufre daño desde que se encuentra en el campo. El ataque de pájaros, roedores, insectos y microorganismos comienza a deteriorar su capa protectora haciéndolo más susceptible al ataque de plagas de almacén. Algunas prácticas de manejo tradicionales como el "aporreo" en el frijol, el desgrane con maquina mal calibrada o cualquier presión mecánica que reciba el grano, también producirán deterioro haciendo al grano más susceptible al ataque de plagas durante su almacenamiento. En general mientras más entero y sano se almacene un producto, mayor será su conservación (Factores físicos que afectan al grano almacenado, 2023).

1.3.5. Medidas para un correcto almacenamiento.

- ✓ Humedad: Debido a lo mencionado anteriormente influye en el metabolismo del grano.
- ✓ Secado: Los granos y semillas deben secarse en forma artificial o por exposición directa al sol hasta que alcanzan niveles de humedad menores



del 12 %. Si el producto será usado como semilla, en el secado artificial, debe cuidarse que la temperatura no dañe al embrión (Hernández y Carballo, 2017).

- ✓ Limpieza del producto: Después del desgrane o trilla de la cosecha, se deben eliminar al máximo los granos quebrados, los residuos de cosecha, polvo y los restos de tierra e insectos vivos o muertos, ya que el grano sucio o dañado se deteriora más rápido en el almacén y facilita el calentamiento y el desarrollo de plagas y enfermedades (Hernández y Carballo, 2017).
- ✓ Protección de granos y semillas: De preferencia el almacenamiento debe efectuarse en envases que eviten el ataque de organismos. Se recomienda el tratamiento con agroquímicos, siempre y cuando no exista riesgo de daño a la salud, en los casos en que el producto almacenado se use en la alimentación (Hernández y Carballo, 2017).
- ✓ Tipo de almacén: El almacén debe ser seco, fresco, sin goteras y que reduzca el intercambio de humedad entre el producto almacenado y el ambiente; debe evitar los cambios bruscos de temperatura (Hernández y Carballo, 2017).
- ✓ Limpieza y desinfección del almacén: Los locales deben limpiarse en sus paredes, techos y piso, procurando eliminar el polvo, basura, productos almacenados infestados, paja, insectos y toda fuente de contaminación. Se sugiere reparar grietas de las paredes, techos y puertas del almacén, ya que sirven de refugio a las plagas o como puntos de entrada de la humedad.
- ✓ Inspecciones: Al menos cada mes deben inspeccionarse los productos almacenados, para detectar con toda oportunidad la presencia de insectos, hongos y roedores. Se recomienda además medir la humedad y la temperatura durante dichas inspecciones, ya que el aumento de alguna de ellas o de ambas indica que el producto almacenado tiene riesgos de deterioro (Hernández y Carballo, 2017).

1.4. Deterioro de semillas.

En México cada año se pierde casi un 30 por ciento de los granos y semillas que se cosechan, debido a su inapropiado almacenamiento (El informador, 2017).

Es importante no olvidar que el grano o la semilla son seres vivos que respiran oxígeno del ambiente y producen como resultado bióxido de carbono, agua y energía que se traduce en calor; consecuentemente, en la medida en que se acelere el proceso de la respiración, lo hará también el deterioro del grano o la semilla.

Es importante saber diferenciar entre un grano y una semilla, ya que, no puede ser la misma cosa.

- ✓ Grano: Se utiliza el término de grano cuando se destinan para la alimentación humana y animal, o como materia prima para la industria.



- ✓ Semilla: El término de semilla se utiliza para indicar su uso en la siembra, reproducción y multiplicación de la especie o variedad (Hernández y Carballo, 2017).

En las regiones tropicales, donde el clima es cálido y húmedo, se acelera la respiración de los granos y semillas y se favorece el desarrollo de insectos y hongos; sucediendo lo contrario en las regiones de clima frío y seco (Pérez, *et al.*, 2008).

El tiempo que las semillas permanecen viables después de la cosecha usualmente es variable. La viabilidad final va a ser el resultado de la viabilidad inicial en la cosecha dada por factores de la producción y manejo y por la tasa con que se efectúe el deterioro. La especie y los factores ambientales de almacenamiento como temperatura y humedad, influyen en el deterioro o envejecimiento de la semilla (Piñuela, 2001). Si se guardan de manera inadecuada, los granos y semillas registran modificaciones porque empiezan a absorber agua, pero no en cantidades suficientes para germinar, sólo para activar su metabolismo, lo que genera mayor dureza (El informador, 2017). El componente más importante en el deterioro del grano es la pérdida de materia seca, los hongos aceleran la respiración aeróbica del grano consumiendo consumiendo carbohidratos, grasas y proteínas, esta pérdida de materia seca está relacionada con las condiciones de temperatura y humedad, ya que, a mayor temperatura y humedad mayor será la pérdida de materia seca (Brenis, 2019).

Durante el almacenamiento, los mecanismos de deterioro de la semilla disminuyen la germinación, la velocidad de crecimiento de la plántula y la tolerancia a condiciones adversas. Otros síntomas de la semilla deteriorada incluyen: crecimiento anormal, daños en estructuras principales de las plántulas, pérdida de compuestos solubles debido a excesiva permeabilidad de la membrana, reducción de la actividad enzimática, daño oxidativo al ADN y a las proteínas y producción de sustancias tóxicas como ácidos grasos libres. La generación de radicales libres y la peroxidación de lípidos daña la integridad física de las membranas que, a su vez, causa pérdida de compartimentación celular y la expulsión de solutos (Pérez, *et al.*, 2008).

El deterioro de la semilla está asociado con cambios en su metabolismo; por ejemplo, la disminución de carbohidratos que ocurre con la edad de la semilla podría resultar en insuficiencia de sustratos respiratorios para la germinación o en la incapacidad para usarlos; así, un signo del deterioro de la semilla es una disminución significativa de su tasa respiratoria. La relación entre la actividad respiratoria de una semilla durante las primeras horas de germinación y su estado de deterioro es difícil de establecer, pero se aprecia más claramente después de la emergencia de la radícula (Pérez, *et al.*, 2008).

El fin de todas las semillas es la germinación proceso en el que se transforma el embrión contenido en ellas en una nueva planta. Para que esto ocurra la semilla debe encontrarse en presencia de los siguientes factores: temperatura adecuada, humedad, medio ambiente gaseoso (oxígeno para la respiración) y en algunos



casos luz. El control de contenido de humedad en las semillas es un aspecto importante de su manejo (Piñuela, 2001). La respiración de la semilla provee energía requerida para la germinación y su intensidad depende de la funcionalidad de las mitocondrias. Por tanto, las semillas vigorosas requieren mayor aporte energético que las no vigorosas (Pérez *et al.*, 2008).

Una causa de la pérdida de germinación en lotes almacenados durante varios años, es el consumo de reservas de la semilla. Durante el envejecimiento natural de las semillas se reduce el contenido total de reservas, como carbohidratos y proteínas, que es una causa importante de los efectos en el crecimiento y desarrollo de la nueva plántula al avanzar el deterioro de la semilla (Grupo SACSA, 2016). Al permanecer el grano en condiciones inadecuadas para su conservación, provoca daños en la integridad del mismo dañando cada vez más las membranas celulares, exponiendo y aumentando la pérdida de macromoléculas y compuestos que a su vez se degradan por acción enzimática, ya sea del grano o de hongos provocando la aceleración en su deterioro (Brenis, 2019).

El deterioro de la semilla está asociado con cambios en su metabolismo; por ejemplo, la disminución de carbohidratos que ocurre con la edad de la semilla podría resultar en insuficiencia de sustratos respiratorios para la germinación o en la incapacidad para usarlos; así, un signo del deterioro de la semilla es una disminución significativa de su tasa respiratoria. La relación entre la actividad respiratoria de una semilla durante las primeras horas de germinación y su estado de deterioro es difícil de establecer, pero se aprecia más claramente después de la emergencia de la radícula (Pérez, *et al.*, 2008). Otros síntomas de la semilla deteriorada incluyen: El crecimiento anormal, daños en estructuras principales de las plántulas, pérdida de compuestos solubles debido a excesiva permeabilidad de la membrana, reducción de la actividad enzimática, daño oxidativo al ADN y a las proteínas y producción de sustancias tóxicas como ácidos grasos libres (Basavarajappa *et al.*, 1991). La generación de radicales libres y la peroxidación de lípidos daña la integridad física de las membranas que, a su vez, causa pérdida de compartimentación celular y la expulsión de solutos. Por lo que, el deterioro de una semilla se puede entender como una serie de cambios en el tiempo, que afectan funciones vitales y su desempeño, hasta causar su muerte (De la Cruz, 2018).

1.4.1. Estrés oxidativo de los granos y semillas.

Durante el almacenamiento en condiciones inadecuadas (humedad relativa mayor a 60% y temperaturas por arriba de 25°C), los granos y semillas sufren deterioro a nivel bioquímico, el cual se manifiesta en la pérdida de vigor y potencial germinativo de las semillas y en el caso de los granos se ve mermada su calidad nutrimental y propiedades funcionales, lo que provoca una disminución en su valor económico (Jiménez-Vera y Martínez-Manrique, 2017).



Los síntomas de la semilla deteriorada incluyen: crecimiento anormal, daños en las estructuras principales de las plántulas, pérdida de compuestos solubles (debido a daño en la membrana), reducción de la actividad enzimática, daño oxidativo al ADN y proteínas, y producción de sustancias tóxicas (Jiménez-Vera y Martínez-Manrique, 2017).

Estos daños pueden ser provocados porque la semilla sufre estrés oxidativo, el cual es un desequilibrio entre la producción de radicales libres y el sistema de defensa antioxidante. Los radicales libres que se forman por el estrés oxidativo pueden ser el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), radical superóxido (O_2) y radical hidroxilo ($-OH$), que son formas tóxicas que oxidan los ácidos grasos y los convierten en hidroperóxidos (ROOH), mientras que algunas enzimas de defensa (Figura 11) son la peroxidasa, la catalasa y la superóxido dismutasa (Jiménez-Vera y Martínez-Manrique, 2017).

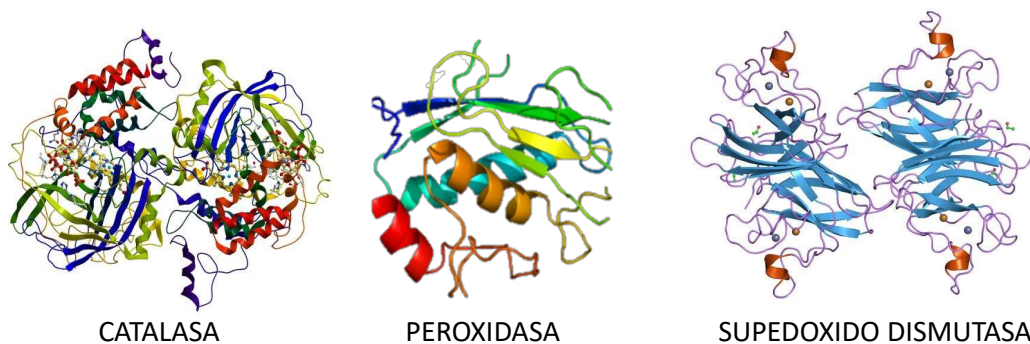


Figura 13. Enzimas de defensa

Fuente: Andronov, 2010

Los lípidos de las membranas celulares se oxidan más fácilmente pues contienen abundantes ácidos grasos insaturados. Además, la estructura y funcionamiento de la membrana se modifica cuando el daño oxidativo se extiende a sus proteínas, lo que genera cambios en su permeabilidad, pérdida de fluidez e integridad. La falta de integridad de las membranas celulares de las semillas también se atribuye a la menor actividad de la enzima peroxidasa. La peroxidación lipídica daña las semillas en tres formas: destrucción de lípidos membranales, oxidación de radicales libres y formación de aldehídos citotóxicos que pueden inactivar proteínas. Como consecuencia la semilla se deteriora y pierde capacidad germinativa y vigor (Jiménez-Vera y Martínez, Manrique, 2017).

La respiración durante el almacenamiento podría reducir el valor nutricional de las semillas de lenteja al consumir nutrientes, como proteínas, lípidos y carbohidratos. Además, la respiración intensiva aceleraría la oxidación y el deterioro interno de las semillas de lenteja, provocando la peroxidación de lípidos y proteínas. En consecuencia, el grado de insaturación del perfil de lípidos y aminoácidos se vería afectado negativamente (Wang *et al.*, 2019).



Por último, pero no menos importante, algunos productos de degradación de lípidos y proteínas en las semillas de lenteja pueden desencadenar inflamación e incluso causar cáncer en el cuerpo humano. Por ejemplo, el malondialdehído (MDA), que es un inductor de cáncer, aumentó más del doble en las semillas de trigo después de un almacenamiento de 300 días. Por lo tanto, para reducir la pérdida de calidad en el almacenamiento a largo plazo, es esencial comprender el metabolismo celular de las semillas de lenteja y aliviar el deterioro interno (Wang *et al.*, 2019).

Los sistemas de captación enzimáticos y no enzimáticos son responsables de eliminar los radicales libres y aliviar el deterioro interno. El sistema de barrido enzimático, que consta de antioxidasas, como la catalasa (CAT), la superóxido dismutasa (SOD) y la peroxidasa (POD), podría catalizar la conversión de oxidantes en composiciones no oxidantes. Además, en el sistema de captación no enzimático, el ciclo de glutatión-ascorbato impulsado por NADPH podría reaccionar directamente con los oxidantes (Wang *et al.*, 2019).

Por lo tanto, el deterioro interno del grano almacenado podría explicarse de dos formas posibles.

- 1) Los radicales libres acumulados exceden los rangos de eliminación de dos sistemas, aunque estos dos sistemas de eliminación funcionan correctamente.
- 2) Las semillas están expuestas al estrés oxidativo durante el almacenamiento debido al mal funcionamiento de los sistemas de eliminación, tal como lo menciona Wang *et al.*, 2019 en su estudio con semillas de arroz.

1.4.2. Radicales libres y especies reactivas de oxígeno (ERO).

Desde el punto de vista químico los radicales libres son todas aquellas especies químicas, cargadas o no, que en su estructura atómica presentan un electrón desapareado en su último orbital, dándole una configuración espacial muy inestable, situación que los hace altamente reactivos, tienen una vida media corta, por lo que actúan rápidamente en el sitio en que se forman (Ortiz y Medina, 2020).

Las ERO comprenden tanto radicales libres como moléculas neutras y su generación en el organismo inicia con la reducción parcial del oxígeno molecular a través de la transferencia de un electrón durante la ruta de la fosforilación oxidativa, generando el anión radical superóxido (O_2^-), que en un ambiente biológico, es transformado enzimáticamente a peróxido de hidrógeno, a partir de la enzima superóxido dismutasa posteriormente, considerando la presencia de metales en el organismo como el Fe^{2+} y Cu^+ a través de la reacción de Fenton con la participación del peróxido de hidrógeno se podría formar el radical hidroxilo (OH) (Ortiz y Medina, 2020)

Si bien las ERO son importantes en procesos celulares para el adecuado desarrollo del organismo vivo, es necesario mantenerlas en concentraciones normales. El



cuerpo humano posee mecanismos naturales o endógenos para mantener concentraciones normales de ERO, algunos de ellos son: las enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa, catalasa, y glutatión peroxidasa, además de atrapadores de radicales libres como el glutatión reducido, el β -caroteno y la vitamina C. (Ortiz y Medina, 2020)

Cuando se genera un incremento en la concentración de las especies reactivas de oxígeno debido a un incremento exagerado en la producción de ERO o debido a la disminución o inhibición de los mecanismos antioxidantes endógenos, decimos que el cuerpo entra en estado de estrés oxidativo. (Ortiz y Medina, 2020).

Generalmente todos los factores ambientales generan estrés oxidativo en las plantas, lo que pueden dañar los componentes de las células e inactivar sus funciones. Las plantas continuamente producen ERO en sus diferentes organelos celulares y estas son continuamente removidas por un complejo sistema antioxidante, en el que participan enzimas, proteínas y otros metabolitos que permiten mantener la homeostasis celular. La producción de ERO se ha establecido como uno de los primeros eventos de señalización implicadas en la respuesta de la planta al estrés biótico (Ortiz y Medina, 2020).

Las especies reactivas de oxígeno degradan los lípidos poliinsaturados y forman malondialdehído. Este compuesto es un aldehído reactivo y es una de las muchas especies de electrófilos reactivos que causan estrés tóxico en las células y forman aductos proteicos covalentes denominados productos finales de lipoxidación avanzada (ALE), en analogía con los productos finales de glicación avanzada. La producción de este aldehído se utiliza como biomarcador para medir el nivel de estrés oxidativo en un organismo. (Malondialdehído, 2023).

1.4.3. Especies reactivas de nitrógeno (RNS).

El óxido nítrico (\bullet NO) es un radical libre y, entre sus derivados RNS, se pueden distinguir los que proceden de la reacción del \bullet NO con otras moléculas inorgánicas como nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-), nitrógeno dióxido de carbono (\bullet NO₂), peroxinitrito (ONOO^-). (Corpas, *et al.*, 2021).

Debe considerarse que el estrés de la planta suele sufrir junto con un estrés nitro-oxidativo ya que el metabolismo tanto de ROS como de RNS están estrechamente relacionados, por lo que deben considerarse en conjunto. (Corpas, *et al.*, 2021).

En la actualidad, se ha demostrado que todos estos RNS están involucrados directa o indirectamente en casi todos los procesos fisiológicos de las plantas superiores, desde la germinación de semillas hasta la maduración de frutos, pero también en el mecanismo de respuesta frente a estreses abióticos. (Corpas, *et al.*, 2021).



Lípidos: Las ROS reaccionan con los lípidos y se produce un conjunto complejo de reacciones aguas abajo a través de un mecanismo de reacción por radicales. Hay varias etapas discretas en este proceso: iniciación radical, donde un ROS extrae un átomo de H, generalmente de un ácido graso poliinsaturado (PUFA), para producir un radical centrado en el carbono; propagación de radicales, donde el radical centrado en el carbono reacciona con el oxígeno molecular para formar un radical peroxilo lipídico; y terminación radical, donde dos radicales reaccionan para formar un producto no radical. Los PUFA son más susceptibles al ataque de ROS porque las energías de los enlaces CH son más bajas si se intercalan entre insaturaciones en carbonos vecinos. (Bahja, *et al.*, 2022).

La gran cantidad de estructuras lipídicas diferentes que se encuentran en los sistemas celulares significa que las reacciones de radicales inducidas por ROS producen muchos productos derivados de lípidos diferentes. Algunos de los más conocidos y tóxicos son los electrófilos derivados de lípidos (LDEs), el malondialdehído (MDA) (Figura 8) y el 4-hidroxinonenal (4-HNE). MDA, un dialdehído, puede entrecruzar grupos amina a través de dos aductos de base de Schiff en una molécula de ADN o proteína, o entre dos lípidos macromoléculas con grupos funcionales amina (Bahja, *et al.*, 2022).

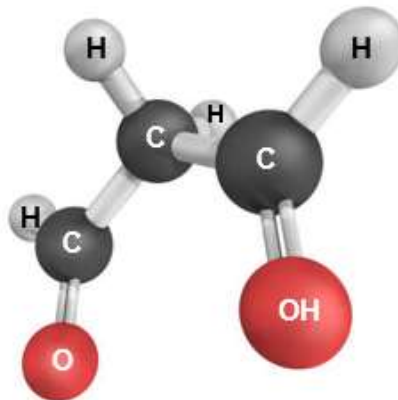


Figura 14. Estructura del malondialdehído.

Fuente: lbreakstock, 2020.

Proteínas: El metabolismo celular aeróbico, al utilizar dióxígeno como último aceptor de electrones en la cadena respiratoria causa inevitablemente la producción de Especies Reactivas de Oxígeno (ERO's) que oxidan cualquier macromolécula a su alcance (DNA, lípidos y proteínas). Las proteínas sufren varios tipos de oxidación; una de ellas, la formación de grupos carbonilo, ha sido utilizada metodológicamente para evaluar el grado de daño oxidativo en diferentes sistemas biológicos (Díaz-Acosta y Membrillo-Hernández, 2005).

El daño oxidativo a las proteínas tiene una química muy compleja. Sistemas generadores de radicales libres como el compuesto por Cl_2Fe ácido ascórbico, el de



xantina / xantina oxidasa y el H_2O_2 , producen la aparición de numerosos grupos carbonilo y otras alteraciones en diferentes proteínas. Los mecanismos operantes en cada sistema pudieran ser diferentes y también pueden variar en dependencia de la proteína afectada. El daño oxidativo de las proteínas tiene vínculos con el que se produce en otras biomoléculas (Vicedo y Vicedo, 2000).

En general, cualquier factor que ocasione estrés oxidativo puede causar oxidación proteica, por ejemplo, la disminución en la eficiencia de los sistemas antioxidantes de defensa, el aumento en la producción de ERO's, una disminución en la capacidad de reciclar las proteínas oxidadas o un aumento en la susceptibilidad de las proteínas para ser oxidadas (Díaz-Acosta y Membrillo-Hernández, 2005).

Muchos estreses están asociados con una generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y su sobreproducción descontrolada generalmente genera estrés oxidativo (Corpas, *et al.*, 2021).

La oxidación de proteínas también puede ser clasificada en reversible o irreversible como se resume en la Tabla I. La oxidación reversible constituye, en ocasiones, una forma de activar o desactivar proteínas que tienen una función en la regulación redox, como en el caso de la formación de puentes disulfuro entre grupos tioles de cisteínas cercanas dentro de la conformación tridimensional de una proteína. Otras formas de oxidación reversible son la glutationilación y la S-nitrosilación (Díaz-Acosta y Membrillo-Hernández, 2005).

La oxidación irreversible de proteínas se da por medio de cuatro mecanismos: la carbonilación, la ruptura de enlaces peptídicos, la nitración y la formación de enlaces proteína-proteína. Estas oxidaciones son ocasionadas por reacción de proteínas con EROs, algunos de los cuales son radicales libres generados por radiación ionizante y por oxidación catalizada por un metal (OCM) (Díaz-Acosta y Membrillo-Hernández, 2005)

- ✓ Carbonilación: Se lleva a cabo químicamente por cuatro rutas principales. La primera es la oxidación directa de prolina, lisina, arginina y treonina por reacción con EROs. La segunda ruta de formación de grupos carbonilo involucra la ruptura de la cadena polipeptídica por medio de la ruta de α -amidación o por la oxidación de residuos de ácido glutámico lo cual conlleva a la formación de péptidos en los cuales el aminoácido N-terminal está bloqueado por un derivado α -cetoacilo. Las dos rutas de oxidación restantes implican reacciones secundarias con moléculas que presentan grupos carbonilo reactivos formados previamente por reacción directa de biomoléculas con EROs; por ejemplo, por reacción de Michael del grupo amino de lisina, la entidad imidazol de histidina o el grupo sulfidril de cisteína con malondialdehído 4-hidroxi-2- nonenal y 2-propenal (ambos productos de la peroxidación lipídica) y por reacción de cetoaminas, cetoaldehídos y deoxiosonas, que son productos de la reacción de azúcares reductores o sus productos de oxidación, con el grupo amino de residuos de lisina (glicación y glicoxidación, respectivamente) (Díaz-Acosta y Membrillo-Hernández, 2005).



Esto se reconoce por un aumento en los niveles de biomoléculas oxidadas que incluyen proteínas, ácidos grasos y ácidos nucleicos que son la carbonilación de proteínas, la peroxidación de lípidos y la 8-oxoguanina, algunos de los biomarcadores reconocidos de estos daños oxidativos, respectivamente (Corpas, et al., 2021).

Con base en la información presentada anteriormente, el objetivo del presente trabajo es la determinación y comprobación de los daños causados en las semillas de lenteja (*Lens culinaris*) provocados por un almacenamiento inadecuado. Es de suma importancia hacer consciencia en el sector agrícola y en las industrias de alimentos este tema, ya que, los granos y las semillas son la principal fuente de alimento de los países en desarrollo o con condiciones de pobreza, así mismo por las pérdidas económicas que se generan en estas materias primas que sirven como fuente de alimento, mismo que es causado por la disminución en la germinación de dichos granos y su contenido nutrimental y funcional.



2. CAPÍTULO II. DESARROLLO EXPERIMENTAL



Química Analítica





2.1. OBJETIVOS.

2.1.1. Objetivo general.

Evaluar el efecto del deterioro de lenteja (*Lens culinaris*) provocado por un almacenamiento inadecuado (40°C, 75% HR) sobre su composición química, calidad nutrimental, factores funcionales y generación de estrés oxidativo para ver si estos parámetros son afectados por el deterioro.

2.1.2. Objetivos particulares.

Objetivo particular 1.

Evaluar el efecto del deterioro de lenteja durante diferentes tiempos de almacenamiento a condiciones de 75% Humedad Relativa y 40°C de temperatura, mediante pruebas de germinación, conductividad eléctrica para determinar el efecto de daño provocado por un almacenamiento inadecuado y su posterior análisis químico proximal (humedad, cenizas, proteínas, grasa, fibra, carbohidratos).

Objetivo particular 2.

Determinar si existe una relación entre el deterioro de la semilla de lenteja sobre su calidad nutrimental mediante pruebas de digestibilidad in vitro, triptófano, almidón total, almidón digerible, taninos, ácido fítico e inhibidores de tripsina para analizar el daño ejercido en la semilla por un deterioro acelerado.

Objetivo particular 3.

Determinar el efecto del deterioro de lenteja, sobre sus factores funcionales mediante pruebas de fibra dietética, almidón resistente, capacidad antioxidante y fenoles para evaluar la relación entre un envejecimiento acelerado y la funcionalidad de la semilla.

Objetivo particular 4.

Evaluar el efecto del deterioro en la lenteja provocado por un almacenamiento inadecuado midiendo la cantidad de carbonilos, malondialdehído (MDA) y su sistema enzimático de defensa (peroxidasa, catalasa y superóxido dismutasa), para determinar la relación con la generación de estrés oxidativo.



2.1.3. Cuadro metodológico.

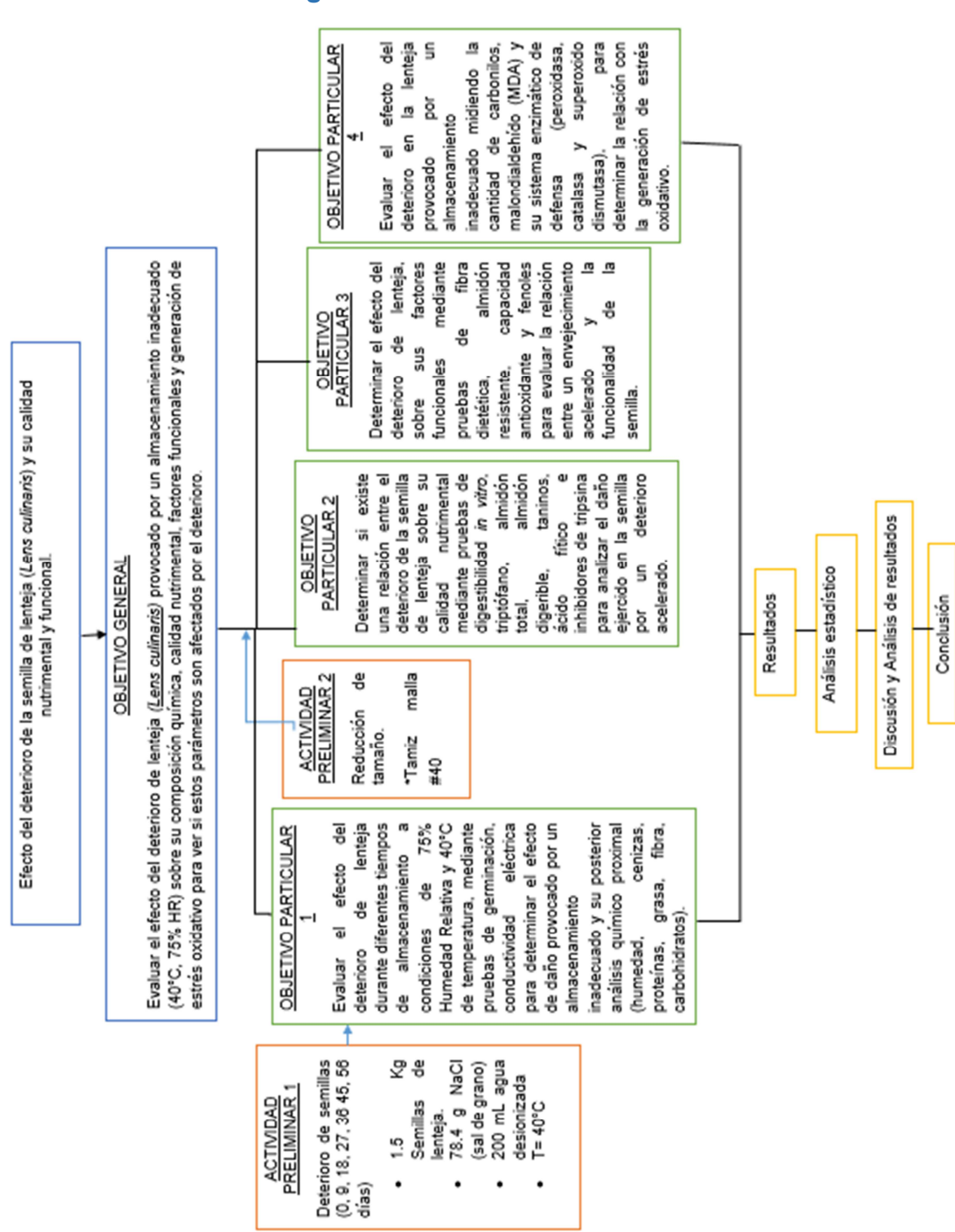


Figura 15. Cuadro metodológico para deterioro de semilla de lenteja.

2.2. Metodología.

2.2.1. Material biológico.

En el presente trabajo se empleó la especie de lenteja (*Lens culinaris*) variedad verdina, cosecha 2019 del Estado de Michoacán.

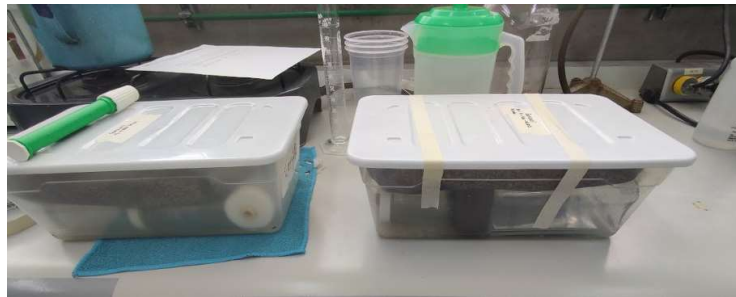


Figura 16. Preparación del material biológico.

Estas semillas de lenteja se someten a un deterioro acelerado colocándolas en recipientes herméticos (Figura 16), que en la parte inferior contienen una solución saturada de NaCl (78.4 g de sal de grano en 200 mL de agua desionizada) y en la parte superior se colocan las semillas sobre una charola perforada para evitar el contacto con la solución. Posteriormente se mantienen a una temperatura de 40°C y 75% HR durante diferentes periodos de tiempo (9, 18, 27, 36, 45 y 56 días) (Figura 17).



Figura 17. Muestras de lenteja (*Lens culinaris*) con diferentes tiempos de deterioro

2.3. Parámetros de deterioro.

2.3.1. Ensayos de germinación.

Colocar 50 semillas de lenteja desinfectadas con cloro al 1% sobre un sustrato (papel filtro) previamente humedecido con agua desionizada, finalmente se colocan en cajas petri (Figura 18) las cuales se mantienen a 25°C durante 72 horas. Al término de este tiempo, se cuentan las semillas germinadas y los resultados se expresan como porcentaje de germinación.



Figura 18. Germinación de lenteja deteriorada en cajas Petri.

2.4. Análisis bioquímico.

2.4.1. Escape de electrolitos.

Fundamento:

La prueba de conductividad eléctrica permite estimar la integridad de la membrana celular. La pérdida de la integridad de las membranas y la subsiguiente pérdida de solutos citoplasmáticos con propiedades electrolíticas son indicativas del rápido deterioro de las semillas (Tajbakhsh, 2000).

Procedimiento:

Se realiza la determinación de la conductividad del agua de remojo de las semillas mediante un conductímetro (HI 3291 ATC Conductivity Probe Connect 1) (Figura 19) con la técnica de Stewart y Bewley, (1980).

Se colocan 1.8 g de semillas de lenteja (*Lens culinaris*) en 20 mL de agua desionizada y se incuban por 24 horas a una temperatura de 25°C. Después de 24 horas se procede a realizar la lectura únicamente del agua obtenida del remojo de lentejas con ayuda del conductímetro mencionado anteriormente el cual expresa los resultados en micro-siems (μs).

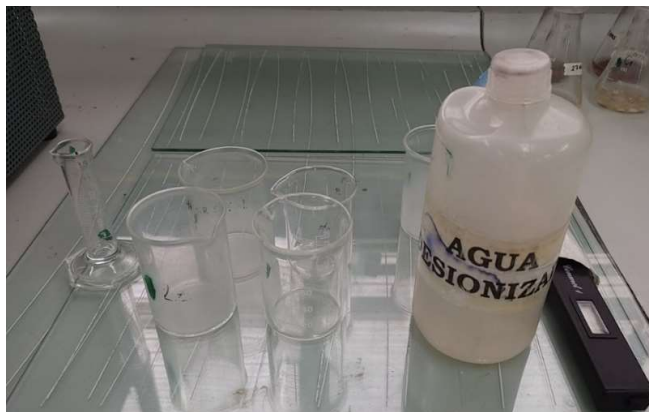


Figura 19. Material para prueba de conductividad eléctrica

2.5. Análisis químico proximal.

Se realizó un análisis químico proximal a las semillas, tanto control como las de diferentes días de deterioro (0, 9, 18, 27, 36, 45 y 56) (A.O.A.C, 2005).

2.5.1. Determinación de humedad.

Técnica: Secado por estufa (920.53)

Fundamento:

La determinación de secado en estufa se basa en la pérdida de peso de la muestra por evaporación del agua. Para esto se requiere que la muestra sea térmicamente estable y que no contenga una cantidad significativa de compuestos volátiles. El resultado se expresó como porcentaje de humedad (Nielsen, 2009).

Procedimiento:

- ✓ Pesar una muestra de 3 g de muestra en tres cajas de aluminio a peso constante.
- ✓ Las muestras se meten a la estufa (Figura 20) durante 1 hora a una temperatura de 130°C.
- ✓ Colocar en un desecador las cajas de aluminio y posteriormente dejar enfriar por 10 minutos
- ✓ Posteriormente se pesan las cajas en una balanza analítica y repetir la operación hasta llegar a peso constante (aproximadamente 2 horas).

Ecuación 1.

$$\%H = \frac{(W_2 - W_3)}{W_1} \times 100$$

Nomenclatura:

W1=Peso de la muestra (g)

W2= Peso de la muestra húmeda (g)

W3=Peso de la muestra seca (g)



Figura 20. Estufa ARSA® AR-290D usada para la determinación de humedad de las lentejas

2.5.2. Determinación de cenizas.

Técnica: Método de Klemm “Cenizas totales” (923.03)

Fundamento:

Se basa en la descomposición de la materia orgánica por incineración. En este método toda la materia orgánica se oxida en ausencia de flama a una temperatura entre 550-600°C; el material inorgánico que no se volatiliza a esta temperatura se conoce como ceniza. El residuo de incineración es calculado mediante la diferencia de peso (Hart, 1991).

Procedimiento:

- ✓ Se colocan 3g de muestra en un crisol puesto a peso constante.
- ✓ El crisol se expone a fuego directo (Figura 21) y se deja calcinar la muestra hasta que no salga humo y el color de la ceniza sea negro.
- ✓ Se coloca en la mufla de 550 a 600°C durante 1 hora y después se deja enfriar 10 minutos en un desecador y posteriormente se pesa.
- ✓ Se repite, este último paso hasta llegar a peso constante, y se realizan los siguientes cálculos con la ecuación 2.

Ecuación 2.

$$\%C = \frac{(W_3 - W_2)}{W_1} \times 100$$

Nomenclatura:

W1=Peso de la muestra (g)

W2= Peso del crisol sin muestra (g)

W3=Peso del crisol con las cenizas (g)



Figura 21. Incineración de muestras por método Kleem.

2.5.3. Determinación de proteínas.

Técnica: Método de Micro- Kjeldahl (954.01)

Fundamento:

Este método Micro Kjeldahl es una técnica empleada para la determinación de nitrógeno total. Donde en una combustión húmeda con H_2SO_4 y en presencia de un catalizador metálico se transforman las sustancias nitrogenadas en sulfato de amonio valorable con desprendimiento de CO_2 y formación de agua (digestión), para después realizar una destilación para obtener el NH_3 libre a partir de NH_4SO_4 agregando NaOH 40%. El destilado se recibió en una solución de HBO_3 al 40% quedando atrapado el NH_3 para finalmente titular el exceso de ácido con HCl 0.1N (Nielsen, 2009).



Procedimiento:

- ✓ Se pesan 0.1g de muestra y se colocan en un matraz Micro-kjeldahl, con 1.5g de K_2SO_4 , 0.2g de $CuSO_4$ con 2 mL de H_2SO_4 .
- ✓ Se colocaron las muestras en una parrilla eléctrica para que se llevara a cabo la digestión, durante 1 hora (Figura 22a). Finalizado el tiempo se dejaron enfriar
- ✓ Se agregó la solución en un destilador (Figura 22b) y enseguida se vació el $NaOH$ 40%.
- ✓ La destilación fue dirigida hacia un matraz Erlenmeyer con 50 mL de HBO_3 al 40% en conjunto con indicador fenolftaleína, se dejó hasta que llegó a 100 mL y se retiró
- ✓ Posteriormente se tituló con HCl 0.1N (Figura 22c) (los mililitros gastados durante la titulación se utilizaron en la ecuación).

Ecuación 3.

$$\%N = \frac{(V_2 - V_1) * (N) * (0.014)}{W} * 100$$

Ecuación 4.

$$\%P = (Factor) * (\% Nitrogeno total)$$

Nomenclatura:

W= Peso de la muestra (g).

V1= Volumen (mL) de la solución de HCl requerido para la prueba en blanco.

V2= Volumen (mL) de la solución de HCl requerido para la muestra problema.

N= Normalidad del HCl .

*F= 6.25 para lenteja (ver anexo 1).

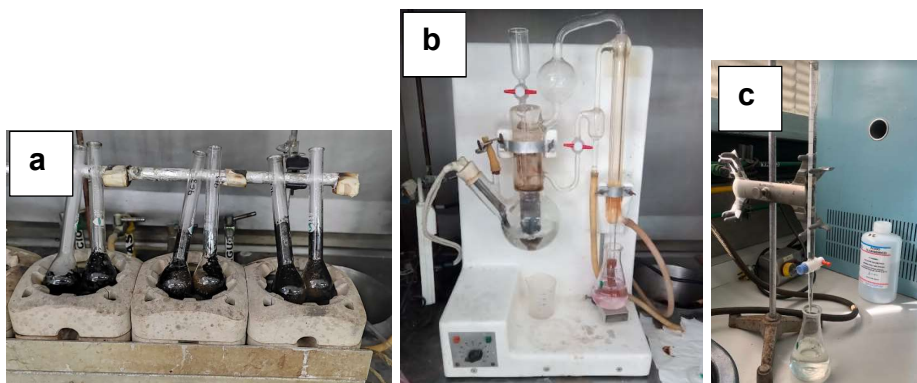


Figura 22. a) Etapa de digestión de proteínas, b) Etapa de destilación de proteínas y c) Etapa de titulación de proteínas.

2.5.4. Determinación de grasa

Técnica: Método de Soxhlet (920.39)

Fundamento:

El método soxhlet consiste en una extracción continua con un disolvente orgánico (hexano), el disolvente es calentado, se volatiliza y condensa goteando sobre la muestra la cual queda sumergida en el disolvente. Finalmente el contenido de grasa se cuantifica por diferencia de peso. El resultado se expresa como porcentaje de grasa extraíble (Nielsen, 2009).

Procedimiento:

- ✓ Se coloca la muestra en pañuelos de forma que envolviera la muestra seca (obtenida de la determinación de humedad).
- ✓ La muestra envuelta se coloca en cartuchos de celulosa y se montan el equipo de destilación (Figura 23) con un matraz bola a peso constante, se puso a reflujo durante 2 horas.
- ✓ Una vez pasado el tiempo se retira el hexano y el cartucho de celulosa.
- ✓ Se espera a que termine de evaporarse el hexano y queda la grasa libre.
- ✓ Se retira el matraz, se colocó en una estufa a 110°C por media hora, se dejar enfriar y se posteriormente pesar.

Ecuación 5.

$$\%Grasa = \frac{(W_2 - W_3)}{W_1} \times 100$$

Nomenclatura:

W1=Peso de la muestra antes de la desecación (g)

W2= Peso del matraz sin muestra (g)

W3=Peso del matraz con grasa (g)



Figura 23. Determinación de grasa para lenteja



2.5.5. Fibra cruda.

Técnica: Wendee (989.03)

Fundamento:

Es la digestión ácida y alcalina de la muestra obteniéndose un residuo de fibra cruda y sales que con calcinación posterior se obtiene la fibra cruda. Su determinación se basa en la simulación de la digestión en el organismo por tratamientos ácidos y alcalinos, separando los constituyentes solubles de los insolubles. La naturaleza química de la fibra cruda, aún cuando no está bien establecida, se considera constituida por celulosa, hemicelulosa y lignina (Nielsen, 2009).

Procedimiento:

- ✓ Se pesa 0.5 g de muestra seca y libre de grasa.
- ✓ Después se coloca la muestra en un vaso de precipitados de 600 mL.
- ✓ Se adicionan 200 mL de H₂SO₄ al 1.25 %, para después colocarlo en una parrilla, bajo un extractor de gases. Se deja hervir durante 20 minutos.
- ✓ Se agregan 200 mL de NaOH al 2.5% y dejar calentándose por 30 minutos.
- ✓ Con ayuda de un papel filtro en un embudo Buchner se llevan las muestras a filtrado, posteriormente este papel se secó y pesó (Figura 24).
- ✓ Se realizan lavados sucesivos con: agua caliente, hasta eliminar el álcali (utilizando papel pH para confirmarlo)
- ✓ Dejar secar a 110°C hasta peso constante (2 horas aproximadamente) para posteriormente pesar.
- ✓ Se pasa el papel filtro a un crisol de porcelana que se encontraba a peso constante e incinerar en la mufla a 500°C.
- ✓ Se deja enfriar para después pesarlo. El resultado de la pérdida de peso es el resultado de la fibra cruda.

Ecuación 6.

$$\%F \text{ cruda} = \frac{(W_2 - W_1) - (W_4 - W_3)}{W_5} \times 100$$

Nomenclatura:

W1= Peso del papel filtro (g)

W2= Peso del papel filtro con residuos secos (fibra) (g)

W3= Peso del crisol vacío (g)

W4= Peso del crisol después de la incineración (cenizas) (g)

W5= Peso de la muestra (g)



Figura 24. Filtración de muestra con embudo Buchner.

1.1.1 Determinación de Carbohidratos

El contenido de carbohidratos se realiza por diferencia con base en la siguiente fórmula.

Ecuación 7.

$$\%CHOS = 100\% - (Proteínas + Humedad + Grasa + Cenizas)$$

2.6. Calidad nutrimental.

2.6.1. Triptófano (cuantificación).

Fundamento:

Se basa en una hidrólisis enzimática, se libera el triptófano del enlace peptídico. Este aminoácido se cuantifica en proteínas puras o péptidas, mediante técnicas colorimétricas en el cual se desarrollará color con *p*-dimetilaminobenzaldehído (DMAB) y nitrito de sodio como contraste. La lectura se realiza mediante espectrofotometría (Figura 25) a $\lambda = 590\text{nm}$ (Rama *et al.*, 1974).

Procedimiento:

- ✓ Se pesa 1g de muestra.
- ✓ Se agrega 10 mL de pepsina y se dejó incubar durante 3 horas a temperatura ambiente.
- ✓ Se adicionan 10 mL de NaOH y Pancreatina, se incubó por 24 horas.
- ✓ Aforar a 50 mL con agua destilada y se filtrar.
- ✓ Se adicionan 7.5 mL de HCL concentrado y DMAB, así como NaNO_2 .



- ✓ Finalmente se coloca en un espectrofotómetro y se realiza la lectura a $\lambda=590$ nm.

Cálculo:

Realizando una curva patrón de 0 a 100 mg de triptófano obteniendo la ecuación de la recta, donde “b” es la ordenada al origen y “m” la pendiente para así determinar el contenido de triptófano de las muestras.

Ecuación 8.

$$y = mx \pm b$$

De la ecuación 8 se realiza el despeje de la variable “x”

Ecuación 9.

$$x = \frac{y - b}{m}$$

Sustituyendo en ecuación 9.

Ecuación 10.

$$x = \frac{y - (-0.034)}{10.8mg^{-1}} = mg Try$$

Tomando el valor de “x” se realiza el cálculo para obtener el contenido de triptófano en gramos por 100 gramos de muestra.

Ecuación 11.

$$\left(\frac{x mg Try}{1mL}\right) \left(\frac{25 mL}{0.5g}\right) (100) = \frac{x mgTry}{100g muestra}$$

Realizar la conversión de unidades para obtener el resultado en gramos de triptófano por cada 100 gramos de proteína.

Ecuación 12.

$$\left(\frac{x g Try}{100g muestra}\right) \left(\frac{100g muestra}{x g proteina}\right) (100) = \frac{x g Try}{100g de proteina}$$

Nomenclatura:

x= Contenido de triptófano (mg de Try)

y= Absorbancia de la muestra a 590 nm

b= -0.034

m= $10 mg^{-1}$



Figura 25. Espectrofotómetro JENWAY® GENOVA-1709

2.6.2. Digestibilidad *in vitro*.

Fundamento:

La técnica consiste en una digestión multienzimática utilizando tripsina, quimotripsina, peptidasa y proteasa para así determinar la digestibilidad de proteínas, mediante una disminución de pH. El coeficiente de correlación entre el pH (Figura 26) a los 20 minutos y la digestibilidad aparente *in vitro* es de 0.90, con un margen de error estimado de 2.23 (Hsu *et al.*, 1977).

Procedimiento:

- ✓ Se pesan una muestra que contenga 10mg de N₂.
- ✓ Agregar 10 mL de agua destilada y ajustar el pH a 8.
- ✓ Se deja en agitación una hora en un baño de agua a 37°C.
- ✓ Después de la hora añadir 1 mL de solución (A)
- ✓ Después se adiciona 1mL de solución (B) a 55°C
- ✓ A los 20 minutos se mide el pH.

Ecuación 13.

$$\% Dig = 234.84 - 22.56 (pH)$$

Nota: Lectura pH= pH de la suspensión de proteína.

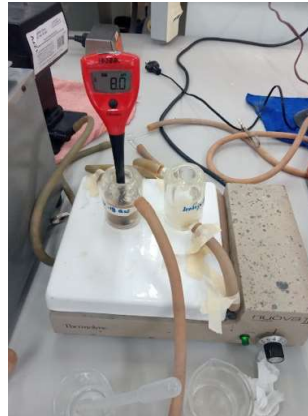


Figura 26. Determinación de digestibilidad *in Vitro* para lenteja deteriorada.

2.6.3. Almidón total.

Fundamento:

El método consiste en cuantificar la glucosa liberada como resultado de una hidrólisis enzimática con amiloglucosidasa que hidroliza los enlaces glucosídicos α -(1,4) y α -(1,6) de las cadenas de amilosa y amilopectina (Goñi *et al.*, 1996).

Procedimiento:

- ✓ Se pesan 0.05g de muestra, se agregan 6 mL de KOH y se mantienen en agitación constante.
- ✓ Pasado el tiempo se agrega 3 mL de buffer acetato de sodio y se ajusta el pH
- ✓ Después se agrega 80 μ L de la enzima amiloglucosidasa y se coloca en un baño a 60°C por 45 minutos.
- ✓ Posteriormente se deja enfriar y se centrifuga a 5000 rpm.
- ✓ Se agrega 1 mL de reactivo de glucosa oxidasa/peroxidasa, se dejó reposar por 20 minutos y se hace la lectura a una absorbancia de 505 nm.

Cálculo:

De acuerdo a una curva patrón de glucosa se obtiene la ecuación de la recta (ecuación 8), ordenada al origen "b" y pendiente "m".

Sustituyendo en ecuación 8 y despejando la variable "x" se obtiene:

Ecuación 14.

$$x = \frac{y - (0.058)}{0.0422 \text{ mg}^{-1}}$$



Con el valor de “x” se realiza el cálculo con las ecuaciones 15, 16 y 17 para obtener el valor de almidón total.

Ecuación 15.

$$x_1 = \frac{(1000 \mu L)(x)}{(10 \mu L)}$$

Ecuación 16.

$$x_2 = \frac{(x_1)(mL \text{ de sobrenadante})}{(1 mL)} \left(\frac{1g}{1000 mg} \right)$$

Ecuación 17.

$$x_3 = \frac{(x_2)(100 g)}{(g \text{ de muestra})}$$

Nomenclatura:

x= Contenido de glucosa (mg) en 10 μ L

y= Absorbancia corregida tomando el valor de absorbancia de la muestra a 505 nm menos la absorbancia del blanco.

b= -0.058

m= 0.0422 mg^{-1}

x_1 = Contenido de almidón total (mg) en 1 mL

x_2 = Contenido de almidón total (g) en el volumen del sobrenadante.

x_3 = contenido de almidón total (g) en 100 g de muestra.

Se calcula el porcentaje de almidón total:

Ecuación 18.

$$\% \text{ Almidón total} = \frac{(x_3)}{(10E3)}$$

2.6.4. Almidón digerible

El contenido de almidón digerible se determinó por diferencia del almidón total menos el almidón resistente.

Ecuación 19.

$$\% \text{ Almidón Digerible} = (\text{Almidón total} - \text{Almidón resistente})$$



2.7. Compuestos funcionales.

2.7.1. Capacidad antioxidante.

Fundamento:

El ensayo se fundamenta en la medición de la capacidad de un antioxidante para estabilizar el radical DPPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo), esta medición puede hacerse espectrofotométricamente siguiendo el decaimiento de la absorbancia a 518 nm. La reacción de estabilización se considera que transcurre principalmente mediante un mecanismo Transferencia de Electrones (TE), con un aporte marginal de Transferencia de Átomos de Hidrógeno (TAH) (Londoño, 2012).

Procedimiento para la obtención del extracto

- ✓ Se pesa 0.1 g de muestra.
- ✓ Se diluye con 1 mL de metanol-HCl al 1%.
- ✓ Se lleva a un baño de agua a 95°C por 10 minutos. Después se centrifuga a 9000 rpm durante 10 minutos.
- ✓ Se obtiene el sobrenadante.
- ✓ Se coloca en una plancha de calentamiento a 65°C hasta su total evaporación (Figura 27).
- ✓ Una vez evaporados, se redissuelve la pastilla en 1mL de agua desionizada.
- ✓ Se realiza una centrifugación a 9000 rpm durante 10 minutos.

Determinación de la capacidad antioxidante

- ✓ A partir del extracto obtenido se toman 500 µL.
- ✓ Se agregan de solución 500 µL DPPH.
- ✓ Posteriormente se dejan reposar en oscuridad absoluta durante 30 minutos.
- ✓ Finalmente se realiza la lectura a 518 nm en espectrofotómetro.

Cálculo:

Ecuación 20.

$$\%CA = \frac{(Abs. control negativo - Abs. muestra)}{Abs control negativo} (100)$$

Nomenclatura:

*Abs. Control Negativo = Valor de absorbancia (Metanol + DPPH).

Abs. Muestra = Valor de absorbancia de la muestra a analiza.



Figura 27. Plancha de calentamiento Barnstead Lab-Line 2050.

2.7.2. Compuestos fenólicos.

Fundamento:

Se basa principalmente en que los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu, a pH básico, dando lugar a una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 765 nm. Dicho reactivo contiene una mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico y reacciona con los compuestos fenólicos presentes en la muestra. El ácido fosfomolibdotúngstico (formado por las dos sales en el medio ácido), de color amarillo, al ser reducido por los grupos fenólicos da lugar a un complejo de color azul intenso, dicha intensidad es la que medimos para evaluar el contenido en polifenoles. (Valadez *et al.*, 1990).

Procedimiento:

- ✓ Preparar el extracto como en la determinación de capacidad antioxidante antes mencionada.
- ✓ Del extracto obtenido se toman 400 μL y agregar 3570 μL agua destilada.
- ✓ Después se incorpora 250 μL de Folin.
- ✓ Se agrega 500 μL Na_2CO_3
- ✓ Agitar y después se realiza la lectura con una absorbancia a 760 nm.
- ✓ Se realizan los siguientes cálculos para la determinación de la cantidad de compuestos fenólicos.

Cálculo:

De acuerdo a una curva patrón de glucosa se obtiene la ecuación de la ecuación de la recta (ecuación 8), ordenada al origen “b” y pendiente “m”. Sustituyendo en ecuación 9 se obtiene.

Ecuación 21.

$$x = \frac{y - (0.065)}{3.492 \text{ mg}^{-1}}$$

Se calcula x_1 (contenido de fenoles en 1 gramo de muestra).

Ecuación 20.



$$x_1 = x \left(\frac{1000 \mu L}{400 \mu L} \right) \left(\frac{1 g}{0.1 g} \right) = mg$$

Se sustituye el valor de x_1 en ecuación 20 para obtener el contenido de fenoles totales.

Ecuación 21.

$$Fenoles = \frac{Y * E}{PM} * 10 = \frac{mg EAG}{g muestra}$$

Nomenclatura:

x= contenido de fenoles (mg) en 400 μ L

y=absorbancia de la muestra a 760 nm

b= 0.065

m= 3.492 mg^{-1}

x_1 : contenido de fenoles (mg) en 1 g de muestra

E: 6 EAG (equivalentes de ácido gálico)

PM: Peso molecular del ácido gálico (170.2 g)

2.7.3. Almidón resistente.

Fundamento:

Este método consiste en una digestión enzimática en donde se hidrolizan las cadenas de almidón y almidón unido a proteínas. Posteriormente se realiza un lavado con agua, etanol y acetona para eliminar la fibra soluble quedando solamente los residuos de fibra insoluble. Dicho proceso se realiza nuevamente con otra digestión para liberar los monómeros de glucosa, que son cuantificados por un método enzimático-espectrofotométrico (Goñi *et al.*, 1996).

Procedimiento:

- ✓ Se pesan 100 mg de muestra y agregar 10 mL de buffer KCl – HCl.
- ✓ Se agrega 200 μ L de pepsina y se mantiene en agitación constante durante 1 hora.
- ✓ Posteriormente se agrega 9 mL de buffer Tris-maleato.
- ✓ Se agrega la 1mL de α -amilasa pancreática e incubar por 16 h (Figura 28a).
- ✓ La muestra se centrifuga 5000 rpm por 15 minutos, posteriormente se agrega 6mL KOH y se mantiene en agitación constante.
- ✓ Se agrega 3 mL de buffer acetato de sodio ajustando el pH a 4.75 y se adiciona 80 μ L de amiloglucosidasa.



- ✓ Se realiza un baño a 60°C con agitación constante durante 45 minutos.
- ✓ Posteriormente se centrifuga 5000 rpm por 10 minutos, el sobrenadante y se trata con reactivo de glucosa y finalmente se lee con un espectrofotómetro (Figura 28b) con una absorbancia de 505 nm.

Cálculo:

De acuerdo a una curva patrón de glucosa se obtiene la ecuación de la ecuación de la recta (ecuación 8), ordenada al origen “b” y pendiente “m”. Sustituyendo en ecuación 9 se obtiene.

Ecuación 22.

$$x = \frac{y - (0.058)}{0.0422 \text{ mg}^{-1}}$$

Para determinar la concentración en 1000 μL (x_1) para así conocer la concentración de glucosa en el sobrenadante (x_2).

Ecuación 23.

$$x_1 = \frac{(x)(1000 \mu\text{L})}{10 \mu\text{L}}$$

Ecuación 24.

$$x_2 = \frac{(x_1)(\text{volumen del sobrenadante en mL})}{1 \text{ mL}}$$

Determinar con la ecuación 25 la concentración en 100g (x_3) y expresarse en porcentaje.

$$\% \text{ Almidón resistente} = \frac{x_3}{10^6 \mu\text{g}}$$

Nomenclatura:

x= Contenido de glucosa (mg) en 10 μL

y= Absorbancia corregida (absorbancia de la muestra a 505 nm menos la absorbancia del blanco)

b= -0.058

m= 0.0422 mg^{-1}

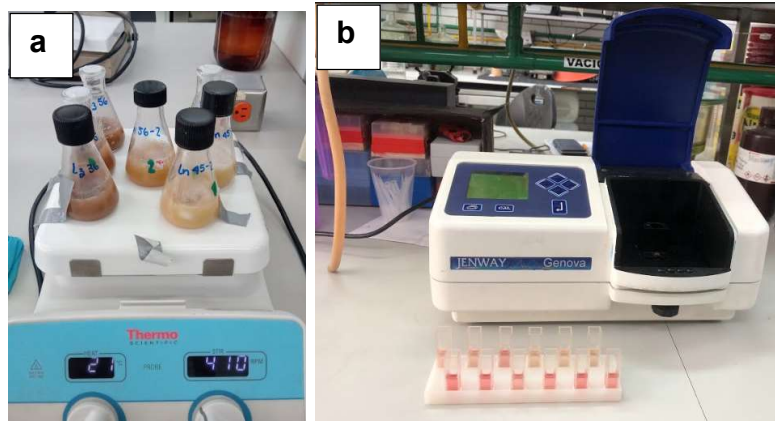


Figura 28. a) Determinación de almidón resistente para lenteja deteriorada y b) Lectura de almidón resistente en espectrofotómetro JENWAY® GENOVA-1709.

2.7.4. Fibra dietética.

Fundamento:

Se sustenta en aislar la fracción de interés, mediante una digestión enzimática con α -amilasa, proteasa y amiloglicosidasa para hidrolizar a la proteína y al almidón, y recuperarla con la precipitación selectiva y después determinar su peso (Cunnif *et al.*, 1994).

Procedimiento:

- ✓ Se pesa 1 g de muestra en un matraz Erlenmeyer de 500 mL y se adiciona 50 mL buffer de fosfato y ajustar el pH a 6 ± 0.02 .
- ✓ Se agrega 1 mL de α -amilasa, se coloca en un baño a 60°C durante 15 minutos a ebullición agitando constantemente y pasado ese tiempo se deja enfriar a temperatura ambiente. Posteriormente ajustar pH a 7.5.
- ✓ Se adiciona 5 mg de proteasa, se coloca en un baño a 60°C por 30 minutos con agitación continua. Posteriormente se ajusta pH a 4-4.6
- ✓ Posteriormente se adiciona 0.1 mL amiloglicosidasa a la muestra y se incuba a 60°C por 30 minutos con agitación continua.
- ✓ Se adiciona 280 mL de etanol 95 % (precalentado a 60°C) y se deja en reposo durante 1 hora (Figura 29).
- ✓ Una vez pasado el tiempo se filtra la solución al vacío, y se hacen 3 lavados con tres porciones de 20 mL de etanol al 78%, posteriormente con dos porciones de 10 mL de etanol al 95% y dos porciones de 10 mL de acetona.
- ✓ El contenido en el papel filtro se seca hasta llegar a peso constante a $100 \pm 2^\circ\text{C}$ y se pesa.
- ✓ Finalmente se analiza el contenido de proteínas y el contenido de cenizas, para posteriormente calcular el contenido de fibra dietética con la siguiente ecuación.

Cálculo:

Ecuación 25.

$$\%Fibra\ dietética = \frac{R - (P + C + B)}{PM} * 100$$

Nomenclatura:

R= Peso del residuo de la muestra (mg)

P= Peso de proteína de la muestra (mg)

C= Peso de cenizas de la muestra (mg)

B= Blanco

PM= Peso de la muestra



Figura 29. Determinación de fibra dietética para lenteja deteriorada

2.8. Compuestos antinutrientales.

2.8.1. Ácido fítico.

Fundamento:

En ácido férrico se calienta una muestra de extracto para conocer el contenido de hierro. Dicha disminución del hierro (determinada colorimétricamente con 2,2-bipiridina) en el sobrenadante es la medida del contenido de ácido fítico. (Haug y Lantsch, 1983).



Procedimiento:

- ✓ Pesar 0.1g de muestra y adicionar 20 mL de HCl 0.2 N, agitar durante 20 minutos y centrifugar a 3000 rpm durante 15 minutos.
- ✓ Tomar 0.5 mL del extracto y colocarlo en un tubo de ensayo.
- ✓ Adicionar 1 mL de sulfato férrico de amonio 0.2%.
- ✓ Tapar el tubo y calentarlo a $95 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 30 minutos.
- ✓ Enfriar los tubos de ensayo.
- ✓ Una vez que se encuentran a temperatura ambiente adicionar 2 mL de 2,2-Bipiridina a cada tubo y agitar.
- ✓ A los 30 segundos exactamente de adicionar la 2,2-Bipiridina, leer la absorbancia a 519 nm (Figura 30).

Cálculos:

De acuerdo a una curva patrón entre los μg de fósforo del ácido fítico/mL y la absorbancia corregida, se obtiene la ecuación de la recta (ecuación 8), ordenada al origen "b" y pendiente "m". Sustituyendo en ecuación 9 se obtiene.

Ecuación 26.

$$x = \frac{y - (-0.03)}{0.028 \mu\text{g}^{-1}\text{mL}^{-1}}$$

Utilizar las ecuaciones 27 y 28 para determinar el porcentaje de ácido fítico.

Ecuación 27.

$$P = \frac{x * E}{T} \left(\frac{1 \times 10^{-6} \text{g}}{1 \mu\text{g}} \right)$$

Ecuación 28.

$$\% \text{Ácido fítico} = \left(\frac{P}{\frac{\text{g muestra}}{\text{mL HCl}}} \right) (100)$$





Figura 30. Determinación de ácido fítico para lenteja deteriorada.

2.8.2. Taninos.

Fundamento:

Este método se basa en la extracción de los taninos hidrolizables y condensados (fenoles totales) mediante dimetilformamida al 75% y la posterior formación de un complejo colorido en condiciones alcalinas, cuantificado con un espectrofotómetro con una longitud de onda de 525 nm. (ISO, 1988).

Procedimiento:

- ✓ Se pesan 1 g de la muestra.
- ✓ Adicionar 50 mL de DMF (N, N-dimetilformamida) al 75%.
- ✓ Agitar durante 1 hora, y dejar reposar durante 15 minutos.
- ✓ Centrifugar a 5000 rpm durante 20 minutos.
- ✓ Tomar 1mL de muestra del sobrenadante, ajustar el volumen a 6 mL con agua destilada, 1 mL de citrato férrico (17-20%), 1 mL de amoniaco.
- ✓ Leer la absorbancia a 525nm (Figura 31) y realizar los cálculos correspondientes.

Cálculos:

De acuerdo a una curva patrón de concentración de ácido tánico y absorbancia, se obtiene la ecuación de la ecuación de la recta (ecuación 8), ordenada al origen "b" y pendiente "m". Sustituyendo en ecuación 9 se obtiene.

Ecuación 29.

$$x = \frac{y - (0.099)}{0.064 \text{ mg}^{-1}}$$

Empleando la ecuación 30 se determina el porcentaje de taninos.

Ecuación 30.

$$\%taninos = \frac{(x) \left(\frac{1g}{1 \times 10^3 mg} \right)}{g \text{ muestra}} (100)$$

Nomenclatura:

x= Contenido de taninos (mg)

y= Absorbancia de la muestra a 525 nm

b= 0.099

m= 0.064 mg^{-1}



Figura 31. Coloración de muestras de taninos.

2.8.3. Inhibidores de tripsina.

Fundamento:

Se pone en contacto extracto acuoso o diluido de una muestra con una solución estándar de tripsina. La actividad proteolítica se determina utilizando un sustrato sintético (benzoil-arginina-p-nitroanilide) (BAPNA), con ello se producirá una coloración, que es inversamente proporcional al contenido de inhibidores de tripsina y que se lee con ayuda de un espectrofotómetro a $\lambda=410$ nm (Kakade *et al.*, 1974).

Procedimiento:

- ✓ Pesar 1 g de muestra, al cual se le adiciona 45 mL de NaOH 0.01 N; se ajusta el pH a 9.6 ± 2 , se afora a 50 mL con NaOH 0.01 N y la muestra se agita durante 2 horas y 30 minutos. Para después centrifugarse durante 5 minutos a 5000 rpm.
- ✓ Tomar porciones de 0, 0.6, 1, 1.4, y 1.8 mL del extracto anterior ajustando el volumen a 2 mL con agua destilada.
- ✓ Adicionar 2 mL de solución estándar de tripsina y agitar con ayuda de un vortex. Se mantiene en contacto inhibidor de tripsina-tripsina en un baño de 37°C .
- ✓ Posteriormente adicionar solución BAPNA (benzoil-arginil-p-nitroanilida) cada 30 segundos a los cinco tubos. La mezcla se mantiene de reacción por 10 minutos exactos en el baño de agua, transcurrido el tiempo agregar 1 mL de ácido acético al 30% para detener la reacción enzimática.
- ✓ El ácido acético es agregado al 30%, para detener la reacción.
- ✓ La lectura en el espectrofotómetro se realiza a una absorbancia de $\lambda=410$ nm.

Cálculo:

Se utilizan las ecuaciones 31, 32, 33 y 34 para obtener los mililitros de extracto por unidades de tripsina inhibida (UTI).

Ecuación 31.



$$UT = (-)(100)$$

Ecuación 32.

$$UTI = UT_{Blanco} - UT_{cada\ uno\ de\ los\ tubos\ de\ ensayo}$$

Ecuación 33.

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{(UTI)(100)}{UT_{Blanco}}$$

Ecuación 34.

$$\frac{UTI}{mL} = \frac{UTI}{mL \text{ de extracto que se colocaron en cada tubo de ensayo}}$$

De acuerdo a una curva entre el extracto y unidades de tripsina inhibida se obtiene la ecuación de la ecuación de la recta (ecuación 8), ordenada al origen “b” y pendiente “m”.

Ecuación 35.

$$(m) \left(\frac{\text{volumen de aforo de la muestra}}{mg \text{ de muestra}} \right) = \frac{UTI}{mg \text{ de muestra}}$$

Ecuación 36.

$$(m) \left(\frac{50 mL}{1000 mg} \right) = \frac{UTI}{mg \text{ de muestra}}$$

Nomenclatura:

(-) = Absorbancia de cada tubo de ensayo a 410 nm

UT = Unidades de Tripsina

UTI = Unidades de Tripsina Inhibida

m = Contenido de UTI/mL (la pendiente)

2.9. Determinación de estrés oxidativo.

2.9.1. Determinación de carbonilos.

2.9.1.2. Extracto de proteína soluble.

Homogeneizar 0.03 g de muestra de harina de lenteja con 600 µL amortiguador de fosfatos 5mM pH= 7.5 que contenga una mezcla de inhibidor de proteasas.



Al homogenizado agregar amortiguador 800 μ L de fosfatos 5mM pH= 7.5. Los ácidos nucleicos son precipitados con 156 μ L de sulfato de estreptomicina al 2% en HEPES (ácido 4-(2-hidroxietil) piperazin-1-iletanosulfónico) pH=7.2, se centrifuga la muestra a 9000 rpm durante 15 minutos. Al sobrenadante se añade 156 μ L de sulfato de estreptomicina en HEPES pH=7.2 y se centrifuga 9000 rpm. El segundo sobrenadante (Figura 32) se utiliza para la determinación del contenido de carbonilos (Sun y Carl, 1995).



Figura 32. Muestras de proteína soluble mediante método Lowry

2.9.2. Determinación de carbonilos en proteína.

El extracto de proteína se coloca en microtubos adicionando 2,4 dinitrofenilhidrazina 10mM en HCl 2M, se deja reaccionar durante 1 hora a temperatura ambiente. El control es tratado con HCl 2M. Al terminar la reacción, las proteínas son precipitadas con 500 μ L de ácido tricloroacético al 10% y se centrifugan a 4500 rpm durante 4 minutos. Los pallets son lavados 3 veces con 800 μ L de etanol-acetato de etilo (1:1) y el sobrenadante se desecha después de cada lavado. La proteína se disuelve con 1.5 mL de Guanidina 6M en amortiguador de fosfatos 20 mM pH=2.5 a 37°C y posteriormente la solución es centrifugada a 4500 rpm. Finalmente la absorbancia se mide con ayuda de un espectrofotómetro (Figura 33) a 366 nm contra la muestra control tratada con HCl 2M (Levine et al., 1990).

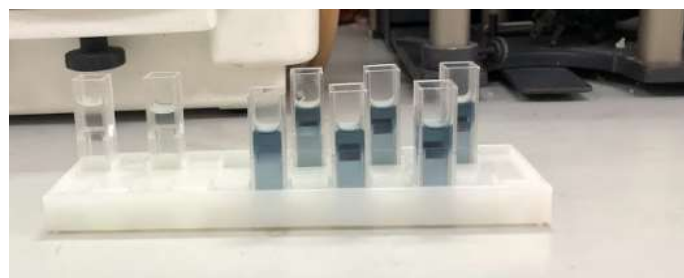


Figura 33. Lectura de carbonilos para lenteja deteriorada



Cálculo:

Se determina el contenido de carbonilos mediante la absorbancia empleando un coeficiente de absorción molar de $22000 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ en la ecuación 37 y posteriormente se realiza un despeje de la variable “c”, quedando la ecuación 38.

Ecuación 37.

$$A = abc$$

Ecuación 38.

$$c = \frac{A}{a * b}$$

Una vez obtenido el valor de “c” se utiliza la ecuación 39 para expresar los carbonilos en unidades de μmol de carbonilos/mg de proteína, empleando mg de proteína obtenidos mediante el método Lowry.

Ecuación 39.

$$\frac{\mu\text{mol carbonilos}}{\text{mg proteina}} = c \left(\frac{1\text{mg proteina}}{x} \right) \left(\frac{1E6\mu\text{mol}}{1\text{mol}} \right)$$

Nomenclatura:

A= Absorción corregida de la muestra a 366 nm (al valor de la absorción de la muestra a 366 nm se le resta el valor de la absorción control a 366 nm)

a= Coeficiente de absorción $22000 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

b= Longitud del paso óptico (1 cm)

c= mol carbonilos/ mg de proteína

2.9.4. Determinación de malondialdehído (MDA).

Fundamento

Se sustenta en la evaluación de productos terminales de la acción oxidante que mediante una reacción con tiobarbitúrico (TBA) se obtiene el cambio en el contenido de fosfolípidos midiendo la formación de malondialdehído (Pérez y Pérez, 2000).

Preparación

Se pesan 0.5 gramos de harina de lenteja y mezclar con 5mL de ácido tricloroacético al 0.5% en ácido tricloroacético al 20. Centrifugar las muestras a 14000 rpm. (Sung y Chiu 1995).



Procedimiento:

- ✓ Colocar una alícuota de solución de 0.5 % de ácido tiobarbitúrico y ácido tricloroacético en la alícuota con la misma cantidad de sobrenadante de muestra, este fue obtenido mediante centrifugación
- ✓ Calentar la solución a 95°C en tubos eppendorf durante 25 minutos y dejar enfriar a temperatura ambiente.
- ✓ Centrifugar a 4500 rpm por 1 minuto para clarificar la solución.
- ✓ Realizar la lectura celdas a una absorbancia de 532 nm y dejar la solución reaccionar con el ácido tiobarbitúrico durante 30 minutos.
- ✓ Realizar una segunda lectura a 600 nm (Heath y Packer 1968).

Cálculo:

El cálculo se realiza con la ecuación 38. Posteriormente los resultados se expresan en μmol de MDA/g de muestra, en el caso de ésta experimentación se utilizaron 0.5 g de muestra y por lo tanto el cálculo expresa el contenido de MDA/0.5g de muestra utilizando la ecuación 40.

Ecuación 40.

$$\frac{\mu\text{mol MDA}}{\text{g muestra}} = \frac{\text{mmol MDA}}{0.5 \text{ g}} \left(\frac{1000 \mu\text{mol}}{1 \text{ mmol}} \right) (2)$$

Nomenclatura:

A = Absorbancia.

a = Absortividad.

b = Longitud del paso óptico.

c = Concentración.

2.10. Actividad enzimática.

El comportamiento de las ERO's se cuantifica mediante la actividad de las enzimas: peroxidasa (POX), catalasa (CAT) y superóxido dismutasa (SOD), para conocer de qué manera influye el almacenamiento inadecuado y el estrés oxidativo sobre estos mecanismos de defensa.

2.10.1. Obtención de extracto enzimático.

Se homogeneiza 0.3 gramos de muestra de harina de lenteja con 3 mL de amortiguador de fosfatos pH= 7.5 y las muestras se centrifugan a 9000 rpm durante 15 minutos. Posteriormente el sobrenadante (Figura 34) se utiliza para la determinación de las enzimas: peroxidasa (POX), catalasa (CAT) y superóxido dismutasa (SOD).

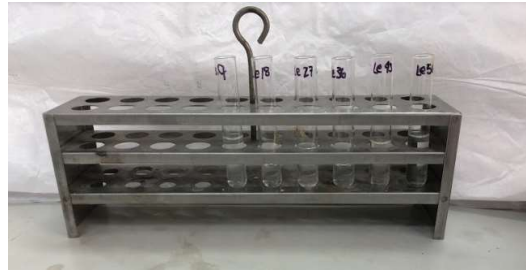


Figura 34. Extracto enzimático de lenteja deteriorada.

2.10.2. Actividad de peroxidasa (POX).

La mezcla se hace reaccionar al adicionar: amortiguador de fosfatos pH=6.7, Guayacol 50mM, Peróxido de hidrógeno 10mM y extracto enzimático. Se prepara un blanco con agua destilada en lugar de extracto.

La lectura de la absorbancia se realiza con ayuda de un espectrofotómetro (JENWAY® GENOVA-1709) con una absorbancia de 470 nm (Figura 35) durante 5 minutos en intervalos de 5 segundos (Chance y Maehly, 1955).

Cálculo:

La actividad de reacción de la peroxidasa (POX) se registra en tiempo y absorbancia, el cual se sustituye por la concentración de peróxido (H_2O_2) consumido en la generación del tetraguaiacol mediante la ecuación 41.

Ecuación 41.

$$[] \text{ de } H_2O_2 = \frac{(Absorbancia)(4)}{26.6 \text{ mmol}^{-1}\text{cm}^{-1}(1 \text{ cm})} = \text{mmol de } H_2O_2$$

Se realiza la curva patrón de tiempo y concentración de peróxido (H_2O_2) para obtener la ecuación de la recta, la pendiente "m" y ordenada al origen "b". El resultado se expresa en mmol H_2O_2 / minuto*g de muestra con la ecuación 42.

Ecuación 42.

$$\frac{\text{mmol } H_2O_2}{\text{minuto} * \text{g muestra}} = m \left(\frac{3000 \mu\text{L}}{100 \mu\text{L}} \right) \left(\frac{1 \text{ g}}{0.3 \text{ g}} \right)$$

Nomenclatura:

26.6 $\text{mmol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ = coeficiente de absorción molar.

4 = mmoles que se ocupan de H_2O_2 para generar el tetraguaiacol (compuesto colorido de la reacción)

1 cm = es el diámetro de haz de luz



Figura 35. Lectura de POX para lenteja deteriorada en espectrofotómetro JENWAY® GENOVA-1709

2.10.3. Actividad de catalasa (CAT).

La reacción consiste en adicionar amortiguador de fosfatos pH=7, peróxido de hidrógeno (H₂O₂) 30 mM y extracto enzimático (Figura 34). Se realiza la preparación de un blanco con agua destilada en lugar de extracto. Los cambios en la absorbancia se leen en un espectrofotómetro (JENWAY® GENOVA-1709) a 240 nm (Figura 36) durante 3 minutos en intervalos de 10 segundos (Aebi, 1984).

Cálculo:

Se utilizan los datos de tiempo y absorbancia obteniendo la concentración de peróxido (H₂O₂) consumido mediante la ecuación 43.

Ecuación 43.

$$[]H_2O_2 = \frac{\text{absorbancia}}{(40 \text{ mmol}^{-1}\text{cm}^{-1})(1 \text{ cm})} = \text{mmol de } H_2O_2 \text{ consumido}$$

Se realiza una curva de tiempo y concentración de peróxido (H₂O₂) para obtener la ecuación de la recta, la pendiente “m” y la ordenada al origen “b”. La pendiente indica la actividad de la catalasa (CAT). El resultado se expresa en μmol H₂O₂/minuto*g muestra con la ecuación 44.

Ecuación 44.

$$\frac{\mu\text{mol } H_2O_2}{\text{minuto} * g \text{ muestra}} = m \left(\frac{3000 \mu\text{L}}{100 \mu\text{L}} \right) \left(\frac{1 g}{0.3 g} \right) \left(\frac{1000 \mu\text{mol}}{1 \text{ mmol}} \right)$$

Nomenclatura:

40 mmol⁻¹ cm⁻¹ es el coeficiente de absorción molar.

1 cm es el diámetro de haz de luz

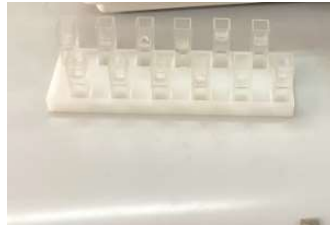


Figura 36. Lectura de CAT a 240nm.

2.10.4. Actividad de superóxido dismutasa (SOD).

Para la mezcla de la reacción se adiciona amortiguador de carbonatos pH= 10.2, EDTA 0.5mM, extracto enzimático y Epinefrina.

Para el blanco se agrega agua destilada en lugar del extracto. Los cambios de absorbancia se leen en un espectrofotómetro (JENWAY® GENOVA-1709) a 480 nm durante 3 minutos en intervalos de 10 segundos (Misra y Fridovich, 1972).

Cálculo:

Ecuación 45.

$$[]_{\text{adenocromo}} = \frac{\text{absorbancia}}{(4 \text{ mmol}^{-1} \text{ cm}^{-1})(1 \text{ cm})} = \text{mmol de adenocromo}$$

La ecuación de la recta se obtiene con la gráfica entre tiempo y concentración de adenocromo para obtener la ecuación de la recta, la pendiente "m" y la ordenada al origen. La pendiente se toma como el valor de la actividad de la superóxido dismutasa en mmol de adenocromo/minuto. El resultado se expresa en $\mu\text{mol de adenocromo/minuto} \cdot \text{g de muestra}$ mediante la ecuación 46.

Ecuación 46.

$$\frac{\mu\text{mol adenocromo}}{\text{minuto} * \text{g muestra}} = m \left(\frac{1 \text{ g}}{0.3 \text{ g}} \right) \left(\frac{1000 \mu\text{mol}}{1 \text{ mmol}} \right)$$

Nomenclatura:

$4 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ es el coeficiente de absorción molar.

1cm se refiere al diámetro del haz de luz

2.11. Método estadístico.

Todas las pruebas fueron realizadas por triplicado; se calculó su media (x), desviación estándar (\pm) y coeficiente de variación (c.v). Las medias se realizaron



con la prueba ANOVA + Tukey con un nivel de significación de 0.05 utilizando el programa estadístico Origin 40.0.



3. CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN





3.1. Parámetros de deterioro.

Los resultados de germinación y conductividad se muestran en la tabla 3. Se puede observar que la germinación de la semilla de lenteja va disminuyendo en relación directa al tiempo de deterioro, esto sugiere que la semilla está sufriendo daños que provocan su deterioro. Por otra parte, la conductividad eléctrica del agua de remojo de la semilla aumentó a partir de los 9 días de almacenamiento siendo este el valor más alto y presenta una disminución a los 45 días de deterioro. Esto puede indicar el daño en la estructura de su membrana celular y con ello la pérdida de la capacidad para germinar, pues se pierden componentes como electrolitos y macromoléculas que son necesarios para su germinación (Pérez, *et al.*, 2008). Por lo tanto, se tienen muestras con diferente grado de deterioro para poder analizarlas.

Tabla 3. Prueba de germinación y conductividad de la lenteja deteriorada

Muestra	% Germinación	Conductividad (μs)
control	91.33 ± 1.15^a	666.67 ± 24.02^a
9 días	76.00 ± 2.00^b	1136.66 ± 51.31^b
18 días	67.00 ± 2.00^{bc}	997 ± 47.31^c
27 días	58.66 ± 1.15^c	963.66 ± 43.31^c
36 días	37.33 ± 1.15^d	1014 ± 14^d
45 días	20.00 ± 2.00^e	871.33 ± 83.24^e
56 días	12.66 ± 1.15^c	893.66 ± 55.41^e

*Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$)

3.2. Análisis químico proximal.

En la tabla 4 se muestran los resultados del análisis químico proximal de las semillas, los diferentes componentes no sufrieron cambios considerables con un mayor tiempo de deterioro, solo se observaron cambios importantes en el porcentaje de fibra cruda la cual aumento hasta 35 veces a los 9 días de deterioro, así mismo los carbohidratos tuvieron una disminución a partir de los 9 días.

Tabla 4. Análisis químico proximal de semillas de lenteja deterioradas

Muestra	Humedad (%)	Proteína (%)	Grasa (%)	Ceniza (%)	Fibra (%)	CHOS (%)
Control	10.39 ± 0.05^a	21.45 ± 0.09^a	0.4 ± 0.00^a	2.54 ± 0.02^a	0.44 ± 0.1^a	58.78^a
9 días	7.94 ± 0.07^b	21.29 ± 0.84^a	1.37 ± 0.16^b	2.69 ± 0.06^a	$15.33 \pm^b$	46.46^b
18 días	7.35 ± 0.16^b	22.44 ± 0.07^a	1.13 ± 0.10^c	2.85 ± 0.01^a	$15.11 \pm^b$	45.77^b
27 días	7.68 ± 0.20^b	23.24 ± 0.53^a	0.93 ± 0.06^d	2.80 ± 0.04^a	$19.81 \pm^c$	40.93^b
36 días	7.7 ± 0.13^b	21.9 ± 0.42^a	1.37 ± 0.02^b	2.74 ± 0.09^a	$16.77 \pm^b$	43.18^b
45 días	7.62 ± 0.17^b	23.17 ± 1.05^a	1.025 ± 0.06^d	2.77 ± 0.04^a	$10.36 \pm^d$	55.05^a
56 días	6.66 ± 0.20^b	24.13 ± 2.05^a	1.22 ± 0.06^{cb}	2.87 ± 0.05^a	$9.64 \pm^d$	55.48^a

*Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$)



Para el caso del contenido proteico de la semilla de lenteja, puede observarse que aumenta ligeramente a los 45 y 56 días pero no hubo una diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$) entre las muestras, ya que, para que una proteína se desnaturalice necesita factores como calor excesivo (temperaturas de horneado $\geq 180^\circ\text{C}$), modificaciones en el pH, alteraciones en la concentración y agitación. También, el contenido de grasa aumenta, presentando una diferencia estadísticamente significativa ($P \geq 0.05$) entre las muestras.

Un aumento en la fibra cruda y en los carbohidratos en las muestras deterioradas nos hablan de un posible incremento de fibra insoluble por cambios en la pared celular, ya que se ha reportado que estos cambios generan una pared celular más rígida. Posiblemente exista formación de enlaces entre proteínas y polisacáridos, ya que, como menciona Aloba *et al*, (2022) un aumento en la temperatura de almacenamiento superior a 38°C aumenta la formación de enlaces entre polisacáridos de la fibra.

3.3. Calidad nutricional.

La digestibilidad *in vitro* no mostró una diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$) provocada por el tiempo de deterioro (tabla 5) y se puede considerar una buena digestibilidad, considerando que los cereales y leguminosas tienen valores de digestibilidad de proteínas más bajos que el resto de grupo de los alimentos en un rango entre 75%-85% (FAO, 1970). Por lo tanto, se considera que el deterioro no afectó la digestibilidad *in vitro* de la proteína de la lenteja. Así mismo hay que considerar que según Mulla *et al*, (2022) se ha demostrado que a pesar de que las legumbres tienen proteínas de difícil digestibilidad, para su consumo se necesita un proceso térmico, mismo que aumenta y facilita su digestibilidad.

Tabla 5. Calidad nutricional de semillas de lenteja deteriorada

Muestra	Digestibilidad <i>in vitro</i> (%)	Triptófano (%)	Almidón total (%)	Almidón digerible (%)
Control	81.43 ± 0.9^a	1.28 ± 0.05^a	32.82 ± 1.36^a	$8.88 \pm ^a$
9 días	85.19 ± 3.44^a	$0.46 \pm 7.07E - 3^b$	33.64 ± 3.54^b	$32.01 \pm ^b$
18 días	82.55 ± 4.79^a	$0.48 \pm 9.19E - 3^b$	40.98 ± 0.9^c	$40.47 \pm ^c$
27 días	81.43 ± 0^a	0.92 ± 0.04^c	34.48 ± 1.33^b	$36.94 \pm ^{bc}$
36 días	80.3 ± 1.59^a	0.46 ± 0^b	37.75 ± 5.89^c	$36.81 \pm ^{bc}$
45 días	88.19 ± 3.18^a	0.34 ± 0.02^d	36.7 ± 1.61^{bc}	$36.01 \pm ^{bc}$
56 días	$80.3 \pm .59^a$	0.33 ± 0^d	40.54 ± 5.13^c	$39.64 \pm ^c$

*Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$)

Como puede observarse en la tabla 5 el triptófano muestra una disminución a la mitad del control a partir de los 9 días de almacenamiento hasta llegar a un 25% del control a los 56 días de deterioro presentando una diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$). El triptófano es un aminoácido esencial, es decir, es necesario que este sea consumido a través de los alimentos, ya que, por si sólo el cuerpo



humano puede sintetizarlo. Este aminoácido tiene la característica de ser termolábil, cuando un alimento se expone a un aumento (50°C-60°C) o disminución de temperatura (10°C-15°C) puede haber una desnaturalización de las proteínas y con ello dejar expuestos los aminoácidos produciendo un cambio químico en ellos (Univa, 2020). Dicho lo anterior una posible respuesta a este comportamiento podría ser el daño proteico que se produce en las semillas, con el almacenamiento a temperatura de 40°C por tiempo prolongado.

El almidón digerible aumentó desde los 9 días de almacenamiento y fue estadísticamente significativo ($P \leq 0.05$) con respecto al control, esto nos sugiere una hidrólisis provocada por el mismo almacenamiento inadecuado.

3.4. Compuestos antinutrientales.

En la tabla 6 puede observarse que el porcentaje de taninos tiene un comportamiento decreciente y existen diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0.05$) entre las muestras, lo que nos indica que los valores obtenidos no presentan un riesgo para el consumo.

Tabla 6. Compuestos antinutrientales presentes en semillas de lenteja deterioradas

Muestra	Taninos (%)	Ácido fítico (%)	Inhibidores de tripsina (%)
Control	0.65 ± 0.01^a	0.91 ± 0.07^a	0.11^a
9 días	0.42 ± 0.014^b	2.92 ± 0.007^b	0.703^b
18 días	0.43 ± 0.007^b	2.49 ± 0.08^c	0.528^c
27 días	0.51 ± 0^c	2.32 ± 0.028^d	0.772^d
36 días	0.55 ± 0^c	2.32 ± 0.007^{cd}	0.515^c
45 días	0.55 ± 0.005^c	2.46 ± 0.042^c	0.437^e
56 días	0.48 ± 0.01^{bc}	2.33 ± 0.05^c	0.281^f

*Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$)

El ácido fítico (AF) muestra un aumento estadísticamente significativo ($P \leq 0.05$) con mayor tiempo de almacenamiento, aunque se debe considerar que esta medición es para la lenteja cruda, sin embargo, se ha comprobado que el tratamiento térmico como la cocción, que es el método más común de procesamiento de las leguminosas, produce reducciones significativas en el contenido de ácido fítico, oligosacáridos, minerales, taninos y compuestos fenólicos (Dueñas *et al.*, 2016). Por lo tanto, se puede decir que su consumo no implica un riesgo para la salud.

Por último, los inhibidores de tripsina también aumentan conforme pasa el tiempo de almacenamiento de la lenteja, mostrando diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0.05$), sin embargo, el consumo de legumbres con cantidades de inhibidores de proteasa que oscilan entre 0.4 y 1.4 UIT/mg al día se considera no



dañino para la salud (García, 2014). Por lo tanto, se puede decir que a pesar de que el deterioro de las semillas de lenteja aumentó el contenido de compuestos antinutrimientales, no fue suficiente para que los taninos, el ácido fítico y los inhibidores de tripsina puedan presentar un riesgo en caso de su consumo.

3.5. Compuestos funcionales.

Puede observarse (tabla 7) una disminución de la fibra dietética en la lenteja con respecto al control durante el almacenamiento con una diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$), relacionando estos resultados con los de fibra cruda (tabla 4) nos indica que la fibra insoluble está aumentando mientras que la soluble está disminuyendo, considerando que la fibra dietética es la suma de ambas. De acuerdo con la tabla 7 puede notarse que para la fibra dietética únicamente se realizaron pruebas de control, 27 días y 56 días de deterioro esto debido a que al observar el comportamiento de la fibra cruda estas muestras eran las que mostraban cambios estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$).

Tabla 7. Factores funcionales para lenteja deteriorada

Muestra	Fibra dietética (%)	Almidón resistente (%)	Capacidad antioxidante (%)	Fenoles (mg EAG/g mtra)
Control	39.03 ± 1.71 ^a	11.21 ± 0.10 ^a	48.75 ± 0.6 ^a	1.49 ± 0.01 ^a
9 días	---	1.02 ± 0.0254 ^b	48.51 ± 0.56 ^a	0.63 ± 0.01 ^b
18 días	---	0.51 ± 0.01 ^c	39.31 ± 0.7 ^b	1.43 ± 0.01 ^a
27 días	26.15 ^b	0.54 ± 3.55E - 3 ^c	38.31 ± 0.28 ^b	1.19 ± 0.01 ^c
36 días	---	0.98 ± 0.03 ^b	36.32 ± 0.15 ^{bc}	1.17 ± 0.01 ^c
45 días	---	0.69 ± 0.01 ^d	32.6 ± 0.3 ^c	1.2 ± 0.02 ^c
56 días	27.70 ^b	0.89 ± 0.02 ^b	17.41 ± 1.17 ^d	1.17 ± 0.01 ^c

*Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$)

En la tabla 7 puede observarse una disminución del almidón resistente (AR). Según afirma Villarroel *et al.*, (2018) en su estudio de almidón resistente (AR), la resistencia a la digestión del almidón se atribuye a su estructura física, es decir, a una mayor cantidad de amilosa con respecto a la cantidad de amilopectina, así mismo se ha comprobado que los almidones provenientes de tubérculos son más resistentes que los contenidos en cereales y semillas. Por lo tanto, esta disminución posiblemente se deba a una mayor cantidad de amilopectina con respecto a la amilasa, teniendo así una estructura del almidón menos compacta y más susceptible a la hidrólisis enzimática.

Las semillas de lenteja muestran una disminución estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$) de capacidad antioxidante a partir de los 18 días de almacenamiento y mantiene el mismo comportamiento durante todo el período de almacenamiento hasta el día 56 que es donde se puede observar una mayor disminución. La determinación de la capacidad antioxidante es útil para valorar la calidad de un



alimento por la cantidad de antioxidantes presentes (Benítez *et al*, 2021), una disminución de ésta posiblemente se deba a que las semillas al estar expuestas en condiciones de temperatura (mayor a 35°C) y humedad (60%) inadecuadas incrementan sus procesos metabólicos produciéndose (ERO's) específicamente en la mitocondria (Jaramillo y Valdivia, 2016). Por otro lado, los compuestos fenólicos muestran una ligera disminución con respecto al control con el almacenamiento.

3.6. Estrés oxidativo.

La proteína soluble, que se muestra en la tabla 8, no presenta una diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$), sin embargo el comportamiento de este parámetro tiene una ligera disminución a los 56 días, esto probablemente se deba al daño en los aminoácidos de la semilla por su envejecimiento, ya que, la concentración del método lowry depende de la concentración principalmente de tirosina y triptófano y como pudo observarse en la tabla 5, el triptófano también va disminuyendo conforme al tiempo, mismo comportamiento que puede relacionarse al de proteína de lowry.

Tabla 8. Concentración de proteínas, carbonilos y malondialdehído en semillas de lenteja deterioradas

Muestra	Proteína soluble (mg)	Carbonilos (μM carb/mg proteína)	Malondialdehído (μM MDA/g semilla)
Control	1.0128 ± 0.34^a	4.128 ± 0.98^a	9.52 ± 1.33^a
9 días	1.02 ± 0.25^a	4.27 ± 1.32^a	15.2 ± 1.42^b
18 días	1.11 ± 0.08^a	4.7 ± 1.34^a	14 ± 1.11^b
27 días	1.09 ± 2.23^a	3.91 ± 0.87^a	10.76 ± 1.76^a
36 días	1.04 ± 3.2^a	1.19 ± 3.1^b	9.52 ± 0.8^{ac}
45 días	1.059 ± 0.24^a	2.02 ± 2.11^c	9.0 ± 2.1^a
56 días	0.897 ± 1.38^a	1.18 ± 1.23^b	7.92 ± 0.21^c

*Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$)

Puede observarse (tabla 8) que a partir del día 36 de almacenamiento disminuyó el contenido de carbonilos mostrando diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0.05$) con el control, Shenzao *et al*, (2018) en su estudio con garbanzos muestran que las proteínas relacionadas con el metabolismo energético y de defensa se reducen observándose una modificación carbonilada en el material biológico por las especies reactivas de carbonilo (RCS), siendo esta una posible respuesta al comportamiento observado de carbonilos.

El Malondialdehído (MDA) presenta un aumento en las muestras control a 9 y 18 días y después muestra un decremento (tabla 8). Lo cual indica que hay una probable peroxidación lipídica debido al envejecimiento de las semillas, ya que, esta es la primer causa de oxidación de ácidos grasos. Un aumento en este nos indica que su sistema de defensa está funcionando, es decir, la semilla trata de defenderse



en este periodo de tiempo, lo que nos indica que hay presencia de radicales libres que provocan una lipoperoxidación. Finalmente puede observarse después de la muestra de 27 días la concentración de MDA comienza a disminuir, según Hansberg (2002) lo que indica este comportamiento es que el mismo sistema de defensa está disminuyendo y/o eliminando radicales libres, para el día 45 en adelante se observa una mayor disminución de dicho componente mostrando una diferencia estadísticamente significativa entre la muestra inicial a la muestra final de 56 días de semilla de lenteja deteriorada, lo cual según Baily *et al*, (1996) en su estudio realizado con deterioro de semillas muestra que este comportamiento es un indicador de que se está trabajando con una semilla muy deteriorada.

Tabla 9. Sistema enzimático de defensa contra estrés oxidativo de lenteja deteriorada

Muestra	POX (mM H ₂ O ₂ /min*g muestra)	CAT (mM H ₂ O ₂ /min*g muestra)	SOD (mM adenocromo/min*g muestra)
Control	1.24 ± 0.47 ^a	6 ± 1.41 ^a	1.66 ± 0.38 ^a
9 días	1.35 ± 0.33 ^a	7.33 ± 2.08 ^b	1.83 ± 0.7 ^a
18 días	3.4 ± 0.25 ^b	6.33 ± 2.08 ^{ab}	1.33 ± 0.33 ^b
27 días	1.69 ± 2.21 ^c	16.6 ± 5.77 ^c	1.33 ± 0.46 ^b
36 días	2.42 ± 0.06 ^d	7 ± 1.73 ^{ab}	1.55 ± 0.7 ^{ab}
45 días	3.18 ± 0.25 ^b	5 ± 1.41 ^d	2.32 ± 0.57 ^c
56 días	6.61 ± 0.07 ^e	6.5 ± 0.7 ^{ab}	3.11 ± 0.19 ^d

*Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadísticamente significativa (P≤0.05)

En la tabla 9 se muestra el sistema de defensa enzimático, puede observarse que la peroxidasa (POX) tiene un comportamiento creciente hasta los 56 días, es decir, nunca pierde su actividad, este comportamiento posiblemente se deba a que esta enzima cataliza la oxidación de varios sustratos endógenos como: ascorbato, ferrocianuro, citocromo y glutatión reducido (Gagne, 2014) quizá por eso esta enzima tiene más actividad en unos periodos a comparación de otros, mostrando la aparición de los distintos sustratos susceptibles de oxidación que esta se encarga de catalizar intentando así mantener la integridad de las células de la semilla de lenteja.

La catalasa también se mantiene activa durante todo el periodo de almacenamiento (tabla 9), aumenta hasta los 27 días y luego disminuye y se mantiene constante hasta los 56 días, una posible respuesta de este comportamiento puede ser que, es la enzima principal en la defensa antioxidante, la catalasa es la responsable de descomponer el peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y transformarlo en agua y oxígeno (Gagne, 2014), y por eso sea la que esté reaccionando por la presencia de especies reactivas de oxígeno y al mostrar una disminución nos habla de una inactivación por daño de la misma, ya que al ser químicamente una proteína puede desnaturalizarse a someterse a temperaturas inadecuadas y perderá o disminuirá su función catalítica y no podrá descomponer el peróxido de hidrógeno. Según Munné-Bosch Y Pintó-Marijuan, (2017) al mantener por periodos largos a las semillas a malas condiciones de temperatura (superiores a 30°C) de almacenamiento como las ya mencionadas anteriormente los cloroplastos, peroxisomas, mitocondrias y



apoplasto pueden contribuir a la formación de ROS, ya que, las moléculas de peróxido de hidrógeno pueden viajar entre las membranas celulares desde los cloroplastos hacia otros organelos celulares, donde por acción de la enzima catalasa (CAT) este peróxido se descompone. La catalasa al localizarse principalmente en los peroxisomas y mitocondrias y presentar una inactivación por desnaturalización. Habla de un daño causado en los organelos por malas condiciones de almacenamiento, principalmente temperatura (mayores a 30°C) y dar como resultado un notorio envejecimiento de la semilla de lenteja.

En la tabla 9 puede observarse que el comportamiento de la SOD (superóxido dismutasa), se mantiene constante pero activa hasta los 36 días de almacenamiento y a los 46 y 54 días presenta un aumento estadísticamente significativo ($P \leq 0.05$), se dice que un aumento en la SOD puede representar la forma de recuperación del sistema de defensa sobre el efecto del mal almacenamiento y envejecimiento de la semilla. Sin embargo, cuando éstos sistemas enzimáticos fracasan o se sobrepasan, se produce una sobre producción de iones superóxido y de peróxido de hidrógeno, que no es totalmente detoxificado dando lugar al radical hidroxilo (-OH) que es altamente tóxico (Zamora, 2007). Dicho lo anterior es probable que la semilla esté tratando de recuperar su sistema enzimático de defensa, provocando el aumento de la superóxido dismutasa (SOD) y que esto a su vez sea una posible explicación al aumento y disminución constante de las enzimas catalasa y peroxidasa.



Conclusión

Se puede concluir que sí hubo un deterioro en las semillas de lenteja provocado por el almacenamiento inadecuado al que fueron sometidas durante 56 días, lo que pudo observarse por la pérdida de germinación de las semillas y el aumento en la conductividad del agua de remojo.

Las condiciones inadecuadas de almacenamiento de las semillas de lenteja no provocaron cambios significativos en su composición química solo un aumento importante en fibra cruda.

El deterioro afectó un poco de forma negativa su calidad nutricional principalmente disminuyendo el contenido de triptófano. Aunque los compuestos antinutrientales presentaron un aumento con el periodo de almacenamiento, los niveles obtenidos no presentan un riesgo para el consumidor.

Los componentes funcionales de las semillas de lenteja sí se vieron afectados por el proceso de deterioro disminuyendo el contenido de fibra dietética, almidón resistente y capacidad antioxidante, sin embargo, sus compuestos fenólicos mostraron una ligera disminución

Por otro lado, se pudo observar que sí se generó estrés oxidativo en las semillas de lenteja deterioradas de acuerdo con los resultados obtenidos de malondialdehído y carbonilos.

Finalmente, el deterioro acelerado de las semillas de lenteja no inactivó el sistema enzimático de defensa, el cual se compone de catalasa (CAT), peroxidasa (POX) y superóxido dismutasa (SOD) y en los tres casos su actividad aumento en relación directa con el tiempo de almacenamiento.

Recomendaciones

- ✓ Realizar previamente un análisis microbiológico a las semillas para evitar problemas de contaminación durante los ensayos de germinación.
- ✓ Evaluar el efecto del deterioro en sus componentes antinutrientales de la lenteja tratada con un proceso térmico.
- ✓ Emplear contenedores herméticos para evitar la evaporación del agua desionizada durante la preparación del material biológico.
- ✓ Realizar estudios similares en granos y semillas para su correcto almacenamiento.
- ✓ Diversificar la implementación en productos con el uso de legumbres como la lenteja.



Referencias

- Aebi, H. (1984). "Catalase in vitro". *Methods in Enzymology*, 105:121-126.
- Agencia de Servicios a la Comercialización y Desarrollo de Mercados Agropecuarios, (2018). Almacenamiento y conservación de granos y semillas. gobmx. Disponible en: <https://www.gob.mx/aserca/articulos/almacenamiento-y-conservacion-de-granos-y-semillas?idiom=es#:~:text=Almacenamiento%20se%20refiere%20a%20concentrar,de%20su%20calidad%20y%20volumen>.
- Agricultura, (s. f.). El cultivo de la lenteja. Infoagro. <https://infoagro.com/herbaceos/legumbres/lenteja.htm>
- Aguilera, Y., Martín-Cabrejas, M. A., Benítez, V., Mollá, E., López-Andréu, F. J., & Esteban, R. M. (2009). Changes in carbohydrate fraction during dehydration process of common legumes. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22(7-8), 678-683.
- Aloba, T. A., Corea, E. E., Mendoza, M., Dickhoefer, U., & Castro-Montoya, J. (2022). Effects of ensiling length and storage temperature on the nutritive value and fibre-bound protein of three tropical legumes ensiled alone or combined with sorghum. *Animal Feed Science and Technology*, 283, 115172.
- Andronov, L. (2019). Enzimas de defensa. Shutterstock. Modificado de: https://es.slideshare.net/amilcar_fajardo/micorbiologia-en-granos-almacenados
- AOAC. (2005). Official Methods of Analysis. 18th ed. Association of Official Analytical Chemists-International Gaithersburg, Maryland, USA (Métodos empleados: 950.09, 920.39, 954.01, 923.03 y 989.03).
- Araneda, M. (2022). Legumbres. Eidualimentaria. Disponible en: <https://www.edualimentaria.com/legumbres-composicion-y-propiedades>
- Araneda, M., (2022). Clasificación de leguminosas. Eidualimentaria. Modificado de: <https://www.edualimentaria.com/legumbres-composicion-y-propiedades>
- Araya, V. R., Martínez, U. K., López, Z. A., Y Murillo, W. A., (2013). Protocolo para el manejo poscosecha de la semilla de frijol. FAO. <https://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/F03-10765.pdf>
- Arrazola, A., (1994). *Biología de la membrana celular. Nefrología*.
- AtlasBig, (s. f). Producción mundial de lentejas por país. FAO Stats. Disponible en: <https://www.atlasbig.com/es-es/paises-por-produccion-de-lentejas>
- Bahja, J., Stewart, N. A., & Dymond, M. K. (2023b). Data for "Oxidative stress is inhibited by plant-based supplements: a quantitative lipidomic analysis of antioxidant activity and lipid compositional change". *Data in Brief*, 46, 108879.
- Baily, C., Benamar, A., Corbineau, E., Y Come, D., (1996). Changes in Malondialdehyde content and in superoxide dismutase, catalase and glutathione aging. *Physiologia. Plantarum*. 97:104-110.
- Barros, J. R. A., Angelotti, F., De Oliveira Santos, J., Silva, R. M. E., Dantas, B. F., & De Melo, N. F. (2020). Optimal temperature for germination and seedling development of cowpea seeds. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 14(2), 231-239.



- Basahi, M. (2021). La germinación de semillas con nanopartículas de dióxido de titanio mejora el suministro de agua, la movilización de reservas, el estrés oxidativo y las actividades de enzimas antioxidantes en guisantes. *Saudi Journal of biological Sciences*, Vol. 28, 6500-6507.
- Basavarajappa, B. S., Shetty, H. S., Prakash, H. S., (1991). Membrane deterioration and other biochemical changes, associated ageing of maize seeds. *Seed Science and technology*. 19. 279-286.
- Benítez-Estrada, A., Villanueva-Sánchez, J., González-Rosendo, G., Alcántar-Rodríguez, V. E., Puga-Díaz, R., & Quintero-Gutiérrez, A. G. (2020). Determinación de la capacidad antioxidante total de alimentos y plasma humano por fotoquimioluminiscencia: Correlación con ensayos fluorométricos (ORAC) y espectrofotométricos (FRAP). *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 23.
- Betacarotenos, (2022). MedlinePlus suplementos. Medline <https://www.scribbr.es/citar/generador/folders/4EjxAbrCZm9eTOOpKfhtdZ/lists/gfDqSGVUm4xptYsopXpXa/>
- Bhatty, R. S. (1988). Composition and quality of lentil (*Lens culinaris* Medik): a review. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 21(2), 144-160.
- Blanco-Valdés, Y., Durañona, H. & Acosta-Roca, R. (2016). Efecto de la temperatura y la humedad en la conservación de granos de maíz en silos metálicos refrigerados. *Cultivos Tropicales*, 37(4), 105-114.
- Brenis. R. D. A, (2019). Efecto del deterioro de Chía (*Salvia Hispanica L.*) y amaranto (*Amaranthus hypochondriacus L.*) sobre sus componentes funcionales. Tesis Licenciatura. UNAM. Cuautitlán Izcalli, Edo. México. pp 32-35.
- Brummer, Y., Kaviani, M., & Tosh, S. M. (2015). Structural and functional characteristics of dietary fibre in beans, lentils, peas and chickpeas. *Food Research International*, 67, 117-125.
- Chance, B. and Maehly, A.C. (1955). "Assay of catalase and peroxidase". *Methods in Enzymology*. 11:764-775
- Codex Alimentarius, (2007). Cereales, legumbres, leguminosas y productos proteícos vegetales. 1ed. 16.
- Corpas, F. J., González-Gordo, S., & Palma, J. M. (2021). Protein nitration: A connecting bridge between nitric oxide (NO) and plant stress. *Plant Stress*, 2, 100026.
- Cunnif, P. M., Fosse, S. A., Auerbach, M. A., Song, J. W. (1994). Mechanical properties of major ampulate gland silk fibers extracted from *Nephila clavipes* spiders. In ACS symposium series.



- De Carrasco, R. R., & Zelada, C. R. E. (2008). Determination of antioxidant capacity and bioactive compounds in native peruvian fruits. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 74(2), 108-124.
- De Dios Elizalde, A., Portilla, Y. P. y Chaparro, D. C. (2009). Factores antinutricionales en semillas. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 7(1), 45-54.
- De la Cruz. G. M.C, (2018). Efecto del deterioro de chíá (*Salvia hispánica L.*). Sobre su calidad nutrimental. Tesis licenciatura. UNAM, CDMX. 31-32.
- Díaz-Acosta, A. E., & Membrillo-Hernández, J. (2005). Consecuencias fisiológicas de la oxidación de proteínas por carbonilación en diversos sistemas biológicos. *Tip Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas (México) Num.1 Vol.9*, 9(1), 34-44.
- Dueñas, M., Sarmiento, T., Aguilera, Y., Benitez, V., Mollá, E., Esteban, R. M., & Martín-Cabrejas, M. A. (2016). Impact of cooking and germination on phenolic composition and dietary fibre fractions in dark beans (*Phaseolus vulgaris L.*) and lentils (*Lens culinaris L.*). *LWT - Food Science and Technology*, 66, 72-78.
- El Informador: Noticias de Jalisco, México, Deportes & Entretenimiento. (2017, 19 octubre). *Granos y semillas se estropean por mal almacenamiento*. El Informador: Noticias de Jalisco, México, Deportes & Entretenimiento.
- Enciso, D. K, Duarte, P. N. (2010). Análisis del consumo de potencia durante la molienda de garbanzo y lenteja a partir de las leyes de Rittinger y Bond comparándolas con el consumo real. Tesis de licenciatura, UNAM, Edo. México, Cuautitlán Izcalli. 26.
- Enjamio. P. L., Rodríguez. A. P., Valero. G. T., Ruiz. M. E., Ávila. T. J. M., Varela. M. G., (2022). Informe sobre legumbres, nutrición y salud. Fundación Española de la nutrición (FEN), NAOS, AECOSAN, España., 2-8.
- Factores físicos que afectan el grano almacenado, (2023). Factores físicos que afectan el grano almacenado. Postcosecha https://www.shareweb.ch/site/Agriculture-and-Food-Security/focusareas/Documents/phm_postcosecha_factores_fisicos.pdf
- Fajardo. M. A., Amaya, R. M., Campos. C. W., Cruz. M. L., (2012). Microbiología en granos almacenados. Slideshare. Disponible en: https://es.slideshare.net/amilcar_fajardo/micorbiologia-en-granos-almacenados
- Fao, (1970). Amino-acid content of foods and biological data on proteins. Estudios FAO alimentación y nutrición No. 24, Roma.
- Fao, (2016). Legumbres, semillas nutritivas para un futuro sostenible. 22-23. <https://www.fao.org/3/i5528s/i5528s.pdf>
- Fibra soluble e insoluble. (2020). MedlinePlus. https://medlineplus.gov/spanish/ency/esp_imagepages/19531.htm
- Fuentes de fibra soluble e insoluble, (2020). MedlinePlus. Disponible en: https://medlineplus.gov/spanish/ency/esp_imagepages/19531.htm



- Gagne, F., (2014). Oxidative Stress. In. *Biochemical Ecotoxicology*. Principles and methods. Academic Press. 103-115.
- García. E. C., (2014). Inhibidores de proteasas en leguminosas. Tesis licenciatura. Universidad de Valladolid, Facultad de Medicina.
- Gomes A. Sa. Amanda., Franco M. Yara M., & Mattar C. Bruno. A., (2019). Procesamiento de alimentos para la mejora de la digestibilidad de las proteínas vegetales. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60 (20), 3367-3386.
- González. P. A. (2020). Ácido fítico y salud. Trabajo de grado en farmacia. Universidad de Sevilla, Facultad de farmacia. Sevilla. 5.
- Goñi I., García, D. L., Mañas, E., Saura C. F. (1996). Análisis de Almidón resistente: Un método para alimentos y productos alimenticios. *Quim. Alimenticia*. 56: 445-449.
- Granos y semillas, Agencia de Servicios a la Comercialización y Desarrollo de Mercados Agropecuarios. (2022). Disponible en:
- Grupo SACSA, (2016). Pérdidas por un mal almacenamiento. Grupo sacsa.com <https://www.gruposacsa.com.mx/perdidas-por-no-almacenar-bien-sus-granos/#:~:text=Un%20mal%20almacenamiento%20del%20grano,la%20p%C3%A9rdida%20final%20del%20dinero>
- González. P. A. (2020). Ácido fítico y salud. Trabajo de grado en farmacia. Universidad de Sevilla, Facultad de farmacia. Sevilla.
- Gutiérrez, G., Virgen, J., Y Arellano., J., (2007). Germinación y crecimiento inicial de semillas de maíz con envejecimiento natural. *Agronomía Mesoamericana* 18(2), 163-170.
- Hansberg, W., T., (2002). Biología de las especies de oxígeno reactivas. Instituto de fisiología celular. Vol XXVI. UNAM. México, D.F.
- Haug, W., Y Lantzsch, H. J. (1983). Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereals and products. *J. Sci. Food Agric.* 34, 14232-14261.
- Heath, L. y Parcker L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and Stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of biochemistry and biophysics* . 125;189-198.
- Hernández, G. A, Y Carballo, C. A. (2017). Almacenamiento y conservación de granos y semillas. SAGARPA. México, Edo México.
- Hsu, H. W., Vavak, D. L., Satterlee, L. D., Miller G. A. (1977) A multienzyme technique for estimating protein digestibility. *Journal of food Science*. 42: 1269-1275.
- Ibreakstock, (2020). Estructura del malondialdehído. Istock. Modificado de: <https://www.istockphoto.com/es/foto/estructura-3d-de-malondialdeh%C3%ADdo-el-compuesto-org%C3%A1nico-con-la-f%C3%B3rmula-ch22-esta-gm1224071287-359773587>



- ISO, 1988. Determinación de taninos en sorgo. International Organization Standardization. ISO/O15 9648. 175-215.
- Jaramillo, F. Y Valdivia, A., (2016). Fundamentos de estrés oxidativo celular. Universidad autónoma de Aguascalientes, México.
- Jiménez-Vera. Y Martínez-Manrique. E, (2017). Relación entre el deterioro de Chía (*Salvia hispanica L.*) y la generación de estrés oxidativo. Aportaciones a las ciencias alimentarias, Capítulo 21, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Villa hermosa Tabasco, México. pp 180-181.
- Kakade. M. R, J. McGhees, Puski G. (1974). Determination of trypsin inhibitor activity of soy products: A collaborative analysis of an improved procedure. Cereal chemistry, V. 51: 376-382.
- Latencia de las semillas (2016). Modificado de: <https://airelibre.cl/las-semillas-duermen-que-es-dormancia-educacion-ambiental/>
- Levine. R. L.; Garland, D.; Oliver. C. N.; Amici. S.; Climent. I.; Lenz. A. G.; Ahn B. W.; Shaltiel. S and Standtman. E. R. (1990). Determination of carbonyl content in oxidatively modified protein. Methods in Enzymology. 186: 464-478.
- Liberal, N., Almeida, D., Fernandes, N., Pereira, C., Ferreira, I. C., Vivar-Quintana, A. M., & Barros, L. (2023). Nutritional, chemical and antioxidant evaluation of Armuña lentil (*Lens culinaris spp*): Influence of season and soil. *Food Chemistry*, 135491.
- Londoño, J. (2012). Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad. Corporación Universitaria Lasallista. Capítulo 9. Parte III Antioquia-Colombia.
- Lowry, O. H.; Rosebrough, N. J.; Farr, A. L. and Randall, R. J. (1951). Protein measure with the Folin phenol reagent. The Journal of biological Chemistry, 193:265-275.
- Mancilla A, D. (2022). Calidad nutrimental y funcional de germinados de lenteja. Tesis de licenciatura. UNAM, Edo de México Cuautitlán Izcalli. pp 5-6.
- Martínez, L. (2014). *Demasiados antioxidantes favorecen el desarrollo del cáncer*. Muy Interesante
- Martínez. M.E, Jiménez. V. V, (2019). Cereales. Técnicas de análisis. Comité editorial, 2da edición. México, Edo. México., pp 23-24.
- Martínez, R. S., Wawrzkievics, M., y Jaurena, G., (2014). Intercomparación de resultados de digestibilidad *in vitro* obtenidos por diferentes técnicas. Centro de investigación y Servicios de nutrición animal (CISNA), Facultad de Agronomía-UBA. Revista Argentina de producción animal. pp 379.
- Márquez L., & Pozzolo O., (2012). El almacenamiento y la conservación de los granos. Tecnología agrícola.



- Márquez. M., Carmen. E. Y., Sútil-Naranjo R. y Rincón M., (2002). Aspectos básicos y determinación de las vitaminas antioxidantes E y A. Clínica de Dislipidemias, Departamentos de Farmacología. Departamento de Bioquímica. Escuela de Medicina, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo, Valencia, Venezuela.
- Merino, S. J., (2022). Probióticos, prebióticos y simbióticos: eficaces y seguros. El farmacéutico. Disponible en: https://www.elfarmacéutico.es/tendencias/te-interesa/probioticos-prebioticos-simbioticos-eficaces-seguros_151349_102.html
- Misra, H. P. and Fridovich I. (1972). "Importance of glutathione peroxidase, catalase and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxidative stress". *Free radical biology and medicine*.17:235-248.
- Mulla, M. Z., Subramanian, P., & Dar, B. (2022). Functionalization of legume proteins using high pressure processing: Effect on technofunctional properties and digestibility of legume proteins. *LWT*, 158, 113106. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113106>
- Munné-Bosch, S., Y Pintó-Marijuan, M. (2017). Free Radicals, Oxidative Stress and Antioxidants. *Elsevier EBooks*, 16–19.
- Nadal. M.S. (2004). Las leguminosas grano en la agricultura moderna. Ediciones mundiprensa. Junta de Andalucía, consejería de agricultura y pesca. Madrid, España. 240-241.
- Nielsen, S. (2009). Análisis de los alimentos. Acribia, España.
- Ortiz Escarza, J. M. Y Medina López, M. E. (2020). Estrés oxidativo ¿un asesino silencioso? *Educación Química*, 31(1), 2
- Pérez, G. L. y Pérez, J. L. (2000). "Métodos para medir el daño oxidativo". Instituto Superior de Medicina Militar. Dr Luis Diez Soto. La Habana, Cuba. *Revista Cubana*. 29 (3): 192-198.
- Pérez, I., Ayala, O., González, V., Carrillo, J., Peña, A., y García , G. (2008). Indicadores morfológicos y fisiológicos del deterioro de semillas de tomate de cascara. *AGROCIENCIA*, 42, 891-901.
- Piñuela. M. J. R., (2001). Efecto de la pérdida de humedad en la germinación de semillas de alupay (*Euphoria didyma Blanco*). *El Zamorano*, Honduras. 5-7.
- Pulido, P., Domínguez, F. & Cejudo, F. J. (2009). Chapter 14 Oxidative Stress and Thiol-Based Antioxidants in Cereal Seeds. *Advances in Botanical Research*, 437-460.
- Quicazán, M., & Caicedo, L. A. (2011). Inactivación del inhibidor de tripsina durante el tratamiento térmico de bebidas de soya. *Vitae-revista De La Facultad De Química Farmaceutica*, 19(1).
- RAE, (2021). (Diciembre, 2022).



- Rajhi, I, Y Baccouri B, (2022). HS-SPME-GC-MS combinado con quimiometría para evaluar el impacto de la germinación, el descascarado y la molienda en los atributos de sabor de las lentejas marrones y verdes (*Lens culinaris subsp. culinaris*). Revista sudafricana de botánica. pp 1102-1110.
- Rama, M., Tara, R., Krishnan, C. (1974). Colorimetric estimation of tryptophan content of pulses. Journal Food Science and Technology. 11:213-216.
- SADER, (2015) Lenteja símbolo de abundancia. Gob.mx. <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/lenteja-simbolo-de-abundancia>
- SAGARPA, (2019). (Diciembre, 2022). Anuario estadístico de producción agrícola.
- Sánchez. A. J. G., Parra. G. M. A., Silvia. O. M. F., Pedroza. P. D., (2011). Efecto de la temperatura y tiempo de almacenamiento sobre la viabilidad en semillas de Zámota (*Coursetia glandulosa*, Gray). Revista de ciencias biológicas y de la salud. 3, 36-40. <file:///C:/Users/lizsa/Downloads/99-Texto%20del%20art%C3%83%20culo-196-1-10-20150721.pdf>
- Santa Ana, A. I. (2019). Pan dulce tipo bites protéico de harina de lenteja y moringa con cocoa reducido en azúcar para personas diabéticas/fitness. Tesis licenciatura, UNAM, Edo. México, Cuautitlán Izcalli.
- SASMI, Beneficios y propiedades de las lentejas, (2023). Sasmi Perú. Disponible en: <https://sasmiperu.wixsite.com/sasmi-peru/single-post/beneficios-y-propiedades-de-las-lentejas>
- Shenzao, F., Guangkun, Y., Xia, X., Shuhua, W., Xinghua, W., & Xinxiong, L. (2018). Levels of Crotonaldehyde and 4-hydroxy-(E)-2-nonenal and Expression of Genes Encoding Carbonyl-Scavenging Enzyme at Critical Node During Rice Seed Aging. *Rice Science*, 25(3), 152-160.
- Shiva, N., Thavarajah, P., & Thavarajah, D. (2018). The impact of processing and cooking on prebiotic carbohydrates in lentil. *Journal of Food Composition and Analysis*, 70, 72-77.
- Stewart, R. C. Robert Bewley J. Derek (1980). Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. *Plant physiol.* 65;245-248.
- Sua Linda., Água, Ávore Y Ser tecnológico, (2016). Condiciones que afectan la latencia de las semillas en almacén. Aire libre. Modificado de: <https://airelibre.cl/las-semillas-duermen-que-es-dormancia-educacion-ambiental/>
- Sung, J. M. and Chiu C. C, (1995). Lipid peroxidation and peroxide-scavenging enzymes of naturally aged soybean seed. *Plant Science*. 110:45-52.
- Sun, Wendell. Q. and Carl L. (1955). The Maillard reaction and oxidative stress during aging of soybean seeds. *Physiologia Plantarum*. 94:94-105.



- Świeca, M. (2015). Production of ready-to-eat lentil sprouts with improved antioxidant capacity: Optimization of elicitation conditions with hydrogen peroxide. *Food Chemistry*, 180, 219-226.
- Świeca, M., & Gawlik-Dziki, U. (2015). Effects of sprouting and postharvest storage under cool temperature conditions on starch content and antioxidant capacity of green pea, lentil and young mung bean sprouts. *Food Chemistry*, 185, 99-105.
- Tajbakhsh, M., (2000). Relationships between electrical conductivity of imbibed seeds leachate and subsequent seedling growth (viability and vigour) in omid wheat. *Journal of Agriculture, Science and Technology*, 2, 67–71.
- Troxler. S., Reardon. W. J., (2022). Luteína y Zeaxantina: ¿En qué alimentos conseguirlos?. North Carolina Department Of Agriculture and Consumer Services. *Food and Drug Protection Division*. 1-2.
- Univa, C. S. (2020). *¿Exponer la proteína en polvo al calor genera algún riesgo?. La Piedad*.
- Uranda, (2020). Diferentes variedades. Eco vegetariano. Disponible en: <https://ecovegetariano.com/2020/03/24/lentejas-la-legumbre-mas-digestiva-y-de-mas-rapida-coccion/>
- Valadez, M., Ortega., Carballo, L. Fucikovsky. (1990). Flavonoides de la testa de frijol como inhibidores de dos bacterias fitopatógenas. *Agrociencia, Serie protección vegetal*. Vol. 1 (2): 75-91.
- Variedades de lenteja, Eco vegetariano (2022). Disponible en: <https://ecovegetariano.com/2020/03/24/lentejas-la-legumbre-mas-digestiva-y-de-mas-rapida-coccion/>
- Verde orgánica. (2022). Lenteja. Mundo orgánico. Disponible en: <https://www.mundorganico.co/wp-content/uploads/2020/11/lenteja-verde-orga%CC%81nica.jpg>
- Vicedo Tomey A., Vicedo Ortega Y., (2000). Relaciones del estrés oxidativo con el catabolismo de proteínas. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 19 (3), 206-212.
- Villagrán, M., Muñoz, M., Díaz, F., Troncoso, C., Celis-Morales, C., & Mardones, L. (2019). Una mirada actual de la vitamina C en salud y enfermedad. *Revista chilena de nutrición*, 46(6), 800-808.
- Villarroel, P. Gómez C., Vera, C., Torres., (2018). *Resistant starch: Technological characteristics and physiological interests*.
- Waliszewski, K., Y Blasco, G. (2010). Propiedades nutraceuticas del licopeno. *Salud Publica De Mexico*, 52(3), 254-265.



- Wang, R., Xiao, L., Yang, L. & Lu, Q. (2019). Oxidative stress with the damage of scavenging system: a mechanism for the nutrients loss in rice seeds during post-harvest storage. *CyTA - Journal of Food*, 17(1), 260-271.
- Wilman A, Delgado. A, (2004), ¿Por qué se enraízan las grasas y aceites?.
- Yadav, David L. McNeil, and Philip C. Stevenson (2007) Lentil: and ancient crop for modern times. Dordrecht, The Netherlands. Springer Verlag. 1.
- Zamora, S., & Diego, J. (2007). Antioxidantes: micronutrientes en lucha por la salud. *Revista chilena de nutrición*, 34(1).
- Zhen, Ma., Yin, X., Hu, X., Li, X., Liu, L., & Boye, J. I. (2018). Structural characterization of resistant starch isolated from Laird lentils (*Lens culinaris*) seeds subjected to different processing treatments. *Food Chemistry*, 263, 163-170.
- Zhiqiang, S., Ying, L., Zhiming H., Liu. L., Qinghai. Y., Dandan G., Min. W., Yan. W., Gaoqiong. V., Hongkun. Y., Pinghua. Y., (2022). Efecto del procesamiento por radiación sobre los antioxidantes fenólicos en semillas de cereales y leguminosas: una revisión. *Food Chemistry*. Vol 396.



ANEXOS



ANEXO 1. Composición química aproximada de los granos y cereales.

Alimento	Proteína	Grasa	Hidratos de carbono	Fibra	Cenizas	Factor de conversión de proteína
Arroz	10.1	2.1	86.4	1.0	1.4	5.95
Avena	22.4	9.8	64	3.9	3.8	6.25
Cebada	10.1	1.1	87.6	0.8	1.2	5.83
Centeno	13.6	1.9	82.5	2.2	2.0	5.83
Maíz	10.3	4.5	83.8	2.3	1.4	6.25
Mijo	11.2	3.3	82.7	3.6	2.8	5.83
Sorgo	12.3	3.7	82.1	1.9	1.9	6.25
Trigo	13.4	2.4	82.3	2.4	1.9	5.83
Triticale	20.2	4.5	73.1	-	2.2	5.83
Lenteja	24-30	1.8	54	11.7	2.5	6.25
Girasol	21	52.1	14.9	-	4.3	6.25
Linaza	20	30	21	20	3	6.25
Garbanzo	12.6-29	3.4-8.83	1.17-4.95	1.17-4.95	2-3.9	6.25

Fuente: Primo, (1997)