



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO
DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS



**INDUCCIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE, FITOQUÍMICOS
Y CONCENTRACIÓN DE SELENIO EN GERMINADOS DE *Vigna* sp.
BIOFORTIFICADOS CON SALES DE SELENIO**

T E S I S

Para Obtener el Grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS AGROALIMENTARIAS

PRESENTA

Ing. Ana María Garduño Zepeda

Director

Dr. César Márquez Quiroz

Villahermosa, Tabasco, junio de 2019.



OFICIO: DACA-199
Villahermosa, Tabasco, a 31 de mayo de 2019
Asunto: El que se indica

C. ANA MARÍA GARDUÑO ZEPEDA
EGRESADA DE LA MAESTRIA EN CIENCIAS AGROALIMENTARIAS
PRESENTE

Por este conducto y de acuerdo a su solicitud de autorización de impresión de Tesis, informo a usted, que sobre la base del Artículo 26 del reglamento de Posgrado de esta Universidad, esta Dirección a mi cargo, le **autoriza la impresión de su trabajo recepcional** bajo la modalidad de Tesis titulada "Inducción de la capacidad antioxidante, fitoquímicos y concentración de selenio en germinados de *Vigna sp.* Biofortificados con sales de selenio."

Sin otro particular, aprovecho la ocasión para enviarle un saludo cordial.

ATENTAMENTE

PH.D. ROBERTO ANTONIO CANTÚ GARZA.
DIRECTOR

U.J.A.T.



DIVISIÓN ACADÉMICA DE
CIENCIAS AGROPECUARIAS
DIRECCIÓN

 c.c.p.- Archivo.

Miembro CUMEX desde 2008
Consortio de
Universidades
Mexicanas
UNA ALIANZA DE CALIDAD POR LA EDUCACIÓN SUPERIOR

Km 25, Carret. Villahermosa-Tepapa
Ra. La Huasteca, 2ª sección, 86298, Centro, Tabasco, México
Tel. (+52 993) 358-15-85 y 142-9150
Correos electrónicos: direccion.daca@ujat.mx, daca.direccion@gmail.com

www.ujat.mx
www.facebook.com/ujat.mx | www.twitter.com/ujat | www.youtube.com/UJATmx

CARTA AUTORIZACIÓN

La que suscribe, autoriza por medio del presente escrito a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para que utilice tanto física como digitalmente la tesis de grado denominada " **Inducción de la capacidad antioxidante, fitoquímicos y concentración de selenio en germinados de *Vigna sp.* biofortificados con sales de selenio.**", de la cual soy autora y titular de los derechos de autor.

La finalidad del uso por parte de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de la tesis antes mencionada, será única y exclusivamente para difusión, educación y sin fines de lucro; autorización que se hace de manera enunciativa mas no limitada para subirla a la red abierta de bibliotecas digitales (RABID) y a cualquier otra red académica con las que la universidad tenga relación institucional.

Por lo antes mencionado, libero a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de cualquier reclamación legal que pudiera ejercer respecto al uso y manipulación de la tesis mencionada y para los fines estipulados en este documento.

Se firma la presente autorización en la ciudad de Villahermosa, Tabasco a los 27 días del mes de mayo del año 2019.

Autoriza



Ana Maria Garduño Zepeda

AGRADECIMIENTOS

A Jehová Dios, porque es quien por amor a la humanidad nos creó con capacidades mayores a las de los demás seres vivos y porque dijo que entonces no habría nada que tengamos pensado hacer que no nos sea posible lograr Génesis 2:7; 11:6)

A la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT) a través de la División Académica de Ciencias Agropecuarias (DACA), por permitirme formar parte de su programa de posgrado y darme la oportunidad de llevar a cabo mis estudios de maestría y así cumplir un objetivo más en mi formación académica.

A mi Director de Tesis, Dr. César Márquez Quiroz, por haberme permitido ser parte de su equipo estudiantil, por sus aportaciones al trabajo de investigación, por su apoyo y amistad, pero sobre todo, por su interés en que finalizara el trabajo. Gracias.

Al Dr. José Rodolfo Velázquez Martínez, por su valiosa contribución en la parte experimental de la investigación, gracias por su apoyo.

Al comité de revisores por su compromiso y aportaciones durante el proceso de aprobación de este trabajo.

A todos y cada uno de mis profesores y profesoras que, de una u otra manera, brindaron su apoyo durante la realización de la maestría. Gracias.

A todos mis compañeros de la maestría en ciencias agroalimentarias por sus palabras de ánimo, en especial a Dafne García Velásquez y Adriana Sánchez Zárate por ser mis maestras de laboratorio, gracias por su apoyo, consejos y cariño incondicional.

DEDICATORIAS

A mi esposo Edmundo Gómez Méndez y a mi hija Aned Gómez Garduño, por su paciencia, amor, sus palabras de aliento en los momentos de desamino, por su apoyo incondicional.

A mis padres y a mis hermanos; por estar ahí, apoyándome y siempre recordándome que en la vida, a pesar de los tropiezos, de las dificultades y de las circunstancias todo se puede lograr, porque fuimos creados con esa capacidad.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
ÍNDICE DE CUADROS.....	vii
RESUMEN.....	viii
ABSTRACT	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. JUSTIFICACIÓN.....	3
III. OBJETIVOS E HIPÓTESIS	4
3.1 Objetivo general.....	4
3.2 Objetivos específicos.....	4
3.3 Hipótesis.....	4
IV. ANTECEDENTES	5
4.1 Generalidades e importancia del frijol caupí.....	5
4.2 Compuestos nutricionales y funcionales.....	6
4.2.1 Proteínas y péptidos	6
4.2.2 Fitoquímicos y antioxidantes.....	8
4.2.3 Compuestos anti-nutricionales.....	11
4.3 Proceso de germinación de semillas.....	12
4.3.1 Germinados	12
4.3.2 Importancia de los germinados de frijol caupí en la nutrición humana.....	14
4.4 Selenio.....	15
4.4.1 Selenio en las plantas.....	16
4.4.2 Metabolismo del selenio en las plantas	17
4.4.3 Selenio en la salud humana	18
4.5 Biofortificación.....	18
4.5.1 Técnicas de biofortificación y su importancia	18
V. MATERIALES Y MÉTODOS	21
5.1 Área de estudio.....	21
5.2 Obtención de la semilla	21
5.3 Producción de los germinados	21
5.4 Diseño experimental y análisis estadístico	22
5.5 Variables evaluadas.....	23
5.5.1 Determinación de las variables agronómicas	23
5.5.2 Cuantificación del contenido mineral y proteína cruda.....	24

5.5.3 Extracción y cuantificación de los contenidos fenólicos totales, flavonoides, taninos y capacidad antioxidante	24
5.5.4 Cuantificación de fenoles totales (CFT)	24
5.5.5 Cuantificación de flavonoides.....	25
5.5.6 Cuantificación de taninos	25
5.5.7 Determinación de la capacidad antioxidante	25
5.5.7.1 Determinación de la capacidad antioxidante por el radical ABTS	26
5.5.7.2 Determinación de la capacidad antioxidante por DPPH.....	26
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	27
6.1 Longitud, diámetro y rendimiento del germinado.....	27
6.2 Contenido mineral y proteína cruda total.....	29
6.3 Contenido total de selenio.....	30
6.4 Compuestos bioactivos.....	32
6.4.1 Capacidad antioxidante.....	32
6.4.2 Contenido de fenoles totales.....	33
6.4.3 Contenido flavonoides totales.....	33
6.4.4 Contenido de taninos totales	34
VII. CONCLUSIÓN	36
VIII. BIBLIOGRAFÍA.....	37
IX. ANEXOS.....	49

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Perfil de aminoácidos del frijol caupí.	7
Cuadro 2. Distribución de los tratamientos de Na_2SeO_3 y Na_2SeO_4 para la biofortificación de germinados de frijol caupí rojo (<i>Vigna unguiculata</i>).	23
Cuadro 3. Longitud, diámetro y rendimiento de los germinados de frijol caupí rojo biofortificados con selenito y selenato de sodio.	28
Cuadro 4. Contenido de proteína cruda total, nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K), calcio (Ca), magnesio (Mg), manganeso (Mn), hierro (Fe), zinc (Zn) y selenio (Se) en germinados de frijol caupí (<i>Vigna unguiculata</i>) en respuesta a la aplicación de diferentes dosis de selenito y selenato de sodio.	31
Cuadro 5. Capacidad antioxidante total (equivalentes de trolox/g de materia seca), fenoles totales (equivalentes de ácido gálico/g de materia seca), flavonoides totales (equivalentes de catequina/g de materia seca) y taninos totales (equivalentes de ácido tánico/g de peso seco) en germinados de frijol caupí (<i>Vigna unguiculata</i>) biofortificados con selenito de sodio y selenato de sodio.	35

RESUMEN

La germinación de semillas de frijol caupí y la biofortificación de sus germinados con sales de selenio resultan ser una estrategia prometedora no solo para mejorar la calidad nutricional de las semillas, sino también, para incrementar los compuestos biológicamente activos que son de interés para la humanidad como agentes protectores contra enfermedades provocadas por especies reactivas de oxígeno. Este estudio fue conducido para inducir la capacidad antioxidante, fitoquímicos y el contenido de Selenio en germinados de frijol caupí rojo (*Vigna unguiculata*) mediante la biofortificación con sales de selenio mediante la aplicación independiente de 0, 10, 20, 30, 40 mg L⁻¹ de selenito de sodio y 0, 10, 20, 30, 40 mg L⁻¹ de selenato de sodio. La germinación se realizó en una cámara de crecimiento Lumistell® ICP-09, a 25 °C y 70 % de humedad relativa por cuatro días. El contenido de proteína cruda, en los germinados, se incrementó en 10.11 % y 5.2 % con la aplicación de 40 mg L⁻¹ de selenito y 30 mg L⁻¹ de selenato respectivamente en comparación con el testigo. Por otra parte, con la adición de 40 mg L⁻¹ de ambas sales se incrementó la concentración de selenio en los germinados en 602.11 % y 680.85 % respectivamente, en comparación con el testigo. Mientras que la adición de 20 mg L⁻¹ de ambas sales incrementó la capacidad antioxidante en 18.9 % y 52.8 % respectivamente, en comparación con el testigo. La aplicación de 40 mg L⁻¹ de selenito y 20 mg L⁻¹ de selenato de sodio incrementó el contenido fenólico total en 20.8 % y 19.4 % respectivamente, en comparación con el testigo, por otra parte, con la aplicación de 30 mg L⁻¹ de selenito de sodio se incrementó la concentración de flavonoides en 10.7 % con relación al testigo. Por lo tanto, la biofortificación de germinados con sales de selenio se propone como alternativa viable para incrementar el contenido de compuestos bioactivos, contenido nutritivo y contenido de selenio en germinados de frijol caupí.

Palabras clave: Alimento funcional, biofortificación, compuestos bioactivos, germinados.

ABSTRACT

The germination of cowpea seeds and the biofortification of their sprouts with selenium turn out to be a promising strategy not only to improve the nutritional quality of the seeds, but also to increase the biologically active compounds that are of interest for humanity as protective agents against diseases caused by reactive oxygen species. This study was conducted to increase the selenium content, antioxidant activity and phytochemical content in red cowpea sprouts (*Vigna unguiculata*) by applying 10, 20, 30, 40 mg L⁻¹ of sodium selenite and 10, 20, 30, 40 mg L⁻¹ of sodium selenate (independent treatments). Germination was carried out in a Lumistell® ICP-09 growth chamber, at 25 °C and 70 % relative humidity for four days. The content of total crude protein in the sprouts increased in 10.11 % and 5.2 % with the application of 40 mg L⁻¹ of sodium selenite and sodium selenate, with respect to the control, on the other hand, the application of 40 mg L⁻¹ of both salts increased the selenium concentration in 602.11 and 680.85 mg kg⁻¹ respectively, with respect to the control. While adding 20 mg L⁻¹ of both salts increased the antioxidant capacity in 18.9 % and 52.8 % respectively, with respect to the control. The addition of 40 mg L⁻¹ and 20 mg L⁻¹ of sodium selenite and sodium selenate, increased the total phenolic content in 20.8 % and 19.4 % respectively, compared with the control, on the other hand, the addition of 30 mg L⁻¹ of sodium selenite increased the flavonoid content in 10.7 % compared with the control. Therefore, the sprouts biofortification with selenium is proposed as a viable alternative to improve bioactive compounds, nutritional content and selenium content in cowpea bean sprouts.

Keywords: Biofortification, bioactive compounds, sprouts.

I. INTRODUCCIÓN

El interés en la composición nutrimental de alimentos para consumo humano ha aumentado en la última década debido a que en todo el mundo, alrededor de 800 millones de personas padecen hambre crónica, lo cual significa que están desnutridas en términos de calorías (FAO *et al.*, 2017). Para alcanzar el objetivo de dietas equilibradas y contrarrestar tal deficiencia, es necesario un mayor consumo de leguminosas. El frijol caupí rojo [*Vigna unguiculata* L. (Walp)] es una leguminosa consumida a nivel mundial como fuente de proteína de alta calidad, carbohidratos con bajo contenido de grasa, que a la vez contiene un patrón de aminoácidos complementario al de los cereales, lo que se considera un alimento funcional importante en la dieta de la población (Vasconcelos *et al.*, 2010; Sreerama *et al.*, 2012), al ser considerado la carne de la sociedad pobre en zonas rurales. Además, proporcionan alto contenido de compuestos bioactivos que benefician a la salud humana, Por otra parte, estudios recientes han demostrado que el proceso de germinación de las semillas del frijol caupí mejora su calidad nutricional y el contenido de compuestos bioactivos (Morales-Morales *et al.*, 2016). Por lo tanto, los germinados de caupí están ganando popularidad como alimento funcional (Bains *et al.*, 2014), al desencadenar bioactividades como la capacidad antioxidante que a la vez combaten el estrés oxidativo, lo que ayuda a mantener el equilibrio entre oxidantes y antioxidantes. Sin embargo, las semillas utilizadas en la producción de estos alimentos frecuentemente presentan una cantidad deficiente de microelementos que el cuerpo humano necesita para un buen funcionamiento, como lo es el selenio.

El selenio (Se) es un micronutriente esencial para el humano en cantidades traza (55–75 µg/d dependiendo la edad y sexo) y su ausencia o baja concentración en alimentos provoca deficiencias y patologías a más de mil millones de seres humanos en todo el mundo (Nothstein *et al.*, 2016). Este microelemento es cofactor enzimático, interviene en la síntesis de hormonas de la tiroides, en la síntesis del ADN, en el funcionamiento muscular, defensa antioxidante y función inmune (Puccinelli *et al.*, 2017; Das *et al.*, 2018). Las plantas representan la fuente principal de este elemento en la dieta, se han explorado varias estrategias para incrementar el contenido de selenio en los germinados, entre las cuales destacan la biofortificación. Márquez-Quiroz *et al.* (2015) la definen como el proceso

mediante el cual se incrementa el contenido de elementos esenciales y benéficos en la parte comestibles de las plantas mediante la intervención agronómica o selección genética. Por lo tanto el objetivo del presente trabajo fue inducir la capacidad antioxidante, contenido de fitoquímicos y concentración de selenio en germinados de frijol caupí rojo mediante la biofortificación con sales de selenio (selenito y selenato de sodio). De ahí que los resultados de esta investigación permitieron identificar y determinar la dosis de selenito o selenato de sodio que indujo a mayor la capacidad antioxidante, contenido de fitoquímicos y concentración de selenio en germinados de frijol caupí rojo, así como generar información para futuras investigaciones.

II. JUSTIFICACIÓN

En la última década se ha incrementado la demanda de alimentos ricos en minerales y fitoquímicos que ayuden a reducir el riesgo de enfermedades crónicas (Morales-Morales *et al.*, 2016). Por ello la nueva tendencia en la nutrición humana implica desarrollar nuevos tipos de alimentos funcionales. De ahí la importancia de considerar otras alternativas de alimentos y disminuir la desnutrición. El presente estudio propone como alternativa el consumo de germinados de frijol, considerando que investigaciones recientes los consideran como el “nuevo tipo” de verduras que además de proporcionar mayor valor nutricional y reducir los antinutrientes que las semillas poseen y que impiden la disponibilidad de los minerales al consumirlos (Duranti, 2006), además de contener compuestos antioxidantes (Tyszka-Czochara *et al.*, 2016).

Los germinados se consumen a nivel mundial como alimento fresco tradicional, de modo similar, los germinados de frijoles se distinguen por su palatabilidad, contenido de compuestos antioxidantes y minerales (Fernández-Orozco *et al.*, 2008). Sin embargo, los germinados por si solos no reúnen la calidad nutricional necesaria (Zou *et al.*, 2014). En este sentido, la germinación y la biofortificación son métodos para mejorar el valor nutritivo de las leguminosas, induciendo cambios deseables en la disponibilidad de elementos minerales, fitoquímicos y características sensoriales (Devi *et al.*, 2015).

Se considera al Se como elemento esencial para el humano al ser componente principal de selenoaminoácidos y selenoproteínas, interviene en múltiples roles del crecimiento y funcionamiento celular, es cofactor de las enzimas glutatión peroxidasa, yodotironina deodona y tioredoxina reductasa, e interviene en la síntesis de ADN (Rayman, 2012). Por lo tanto el objetivo del presente trabajo fue inducir la capacidad antioxidante, contenido de fitoquímicos y concentración de selenio en germinados de frijol caupí rojo mediante la biofortificación con sales de selenio (selenito y selenato de sodio). De ahí que los resultados de esta investigación permitió identificar y determinar la dosis de selenito o selenato de sodio que indujo la capacidad antioxidante, contenido de fitoquímicos y concentración de selenio en germinados de frijol caupí rojo, así como generar información para futuras investigaciones.

III. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

3.1 Objetivo general

Inducir la capacidad antioxidante, contenido de fitoquímicos y concentración de selenio en germinados de frijol caupí rojo mediante la biofortificación con selenito o selenato de sodio.

3.2 Objetivos específicos

1. Evaluar el crecimiento y rendimiento de los germinados de frijol caupí rojo biofortificados con selenito o selenato de sodio.
2. Inducir el incremento en la actividad antioxidante y el contenido de fitoquímicos de germinados de frijol caupí rojo biofortificados con selenito o selenato de sodio.
3. Inducir la concentración de selenio en los germinados de frijol caupí rojo biofortificados con selenito o selenato de sodio.

3.3 Hipótesis

La adición de selenito o selenato de sodio promueve la capacidad antioxidante, contenido de fitoquímicos y concentración de selenio en germinados de frijol caupí rojo

IV. ANTECEDENTES

4.1 Generalidades e importancia del frijol caupí

El frijol caupí [*Vigna unguiculata* (L.) Walp. subsp. *unguiculata*] es originario de África y se encuentra dentro de las 159 especies del género *Vigna* distribuidas a nivel mundial en zonas tropicales y subtropicales. Se agrupa en los subgéneros, *Vigna*, *Ceratotropis*, *Plectotropis*, *Sigmoidotropis*, *Lasiosporon*, y *Haidonia* (Campbell, 2014). El subgénero *Vigna* comprende 40 especies, siendo el de mayor importancia *V. unguiculata* (caupí o frijol pelón), seguido de *V. mungo*, *V. radiata*, y *V. subterranea* (Revanappa *et al.*, 2012). Es cultivado desde la antigüedad principalmente por pequeños y medianos productores (Avanza *et al.*, 2012), fue domesticado en la región del Sahel de África occidental (Smýkal *et al.*, 2015), se introdujo en Europa a partir de su centro de distribución en África (Bejarano *et al.*, 2014).

El frijol caupí es una de las leguminosas que juega un papel crucial en la alimentación del ser humano, debido a su bajo costo y contenido de grasa, así también por alto contenido de proteína, de 23 a 25 %, de carbohidratos, 50 a 67 % (Devi *et al.*, 2015), y fibra, 4 % (Iqbal *et al.*, 2006). Se siembra para su consumo como grano seco, verdura (ejote y germinados), forraje y cobertera (Apáez-Barrios *et al.*, 2013) en tres continentes (África, América y Europa). Dentro de las leguminosas, se encuentra entre los primeros cinco lugares en producción mundial, después del frijol común (*Phaseolus vulgaris*) y el garbanzo (*Cicer arietinum*) (FAO, 2017). Tomando en cuenta lo anterior, el frijol caupí es un componente importante en la dieta humana, no obstante, contienen algunos compuestos poco deseables en la semilla, denominados factores anti nutricionales tales como: inhibidores de las proteasa, lectinas, ácido fítico, entre otros.

Los antinutrientes se unen al hierro o zinc para formar compuestos menos biodisponibles para la absorción (de Almeida-Costa *et al.*, 2006). La superficie mundial cosechada en el año 2017 fue de 12, 577, 845 hectáreas con rendimiento promedio de 589 kg ha⁻¹ (FAO, 2017). Mientras que en México, en el año 2017 se obtuvo una producción de 839.08 toneladas, con una superficie cosechada de 302.38 hectáreas, procedente de 6 estados de la región sureste del país (SIAP, 2017).

En Tabasco, los municipios con mayor producción de frijol caupí son Comalcalco, Cunduacán y Cárdenas, donde junto con el frijol común, es la principal fuente de proteína de origen vegetal entre la población rural (Lagunés-Espinoza *et al.*, 2008). Por consiguiente, a diferencia de otras leguminosas, éste podría considerarse como un alimento funcional, dado a que su contenido de fenoles está relacionado con una actividad antioxidante prometedora (Carunchia *et al.*, 2015).

Además de sus beneficios nutricionales, esta leguminosa presenta un alto contenido de importantes compuestos bioactivos particulares que benefician a la salud humana, lo que implica que pueden promover propiedades bioactivas únicas que complementan otros alimentos, estos compuestos bioactivos actúan como agentes antioxidantes, antidiabéticos, carcinogénicos y antiinflamatorios; de manera que, el consumo de esta legumbre es como una medicina natural (Rungruangmaitree y Jiraungkoorskul. 2017).

4.2 Compuestos nutricionales y funcionales

4.2.1 Proteínas y péptidos

Un grano de frijol caupí en promedio contiene de 23 a 32 % de proteínas, de 50 a 60 % de carbohidratos y aproximadamente 1 % de grasa en base seca (Kirse y Karklina. 2015). El contenido total de proteínas del frijol caupí es aproximadamente de dos a cuatro veces mayor que los cereales y tubérculos (Sebetha *et al.*, 2015), y es semejante o igual a ciertos tipos de carne (18-25 %), de ahí que se le considere la carne de los pobres. Este contenido proteico del caupí depende de la variedad, pues es complejo y único, incluye globulinas (aproximadamente 16 bandas de proteínas), albúminas (aproximadamente 20 bandas de proteínas), glutelinas (21 bandas de proteínas) y prolamina (una banda de proteína), la proteína del caupí está formada principalmente por una fracción de globulina (50-70 %), dividida en dos grupos principales: 11S (leguminosa) y fracción 7S (vicilina/β-vignina) (Fernandes *et al.*, 2012).

Se sabe que las albúminas y las globulinas son las principales proteínas de almacenamiento en el frijol caupí, las fracciones de albúmina en esta semillas varían entre 8.2 y 11.9 %. Clasificándose en proteínas enzimáticas y metabólicas, como la lipoxigenasa, los inhibidores de la proteasa y las lectinas (Tchiagam *et al.*, 2011). Las glutelinas son la siguiente fracción de proteína principal, que comprende 14.4-15.6 % del total de proteínas,

seguida del alto contenido de prolina y glutamina (Tchiagam *et al.*, 2011). Mientras que la prolamina es el tipo de proteína de almacenamiento menos concentrado, varía de 2.3 a 5.0 % (Gupta *et al.*, 2010). Los aislamientos de proteína de esta leguminosa presenta una baja proporción de lisina / arginina, similar a la de los aislamientos de proteína de la soya (*Glycine max* L.), lo que hace que el caupí sea un posible ingrediente funcional para reducir el colesterol (Kanetro, 2015).

La singularidad y la calidad de la proteína en el caupí depende principalmente de su composición de aminoácidos y de la utilización fisiológica de aminoácidos específicos después de la digestión y la absorción (Elhardallou *et al.*, 2015). Hussain y Basahy. (1998) demostraron que las proteínas del caupí están compuestas por al menos 17 aminoácidos. Entre los que destacan la valina, leucina, fenilalanina y lisina en cantidades ligeramente más altas que las de los aminoácidos que contienen azufre. Por otra parte, es deficiente en los aminoácidos metionina y cisteína en comparación con otros cultivos (El-Niely, 2007). Sin embargo, las semillas maduras contienen una baja cantidad de aminoácidos libres en comparación con los inmaduros, esto es principalmente el resultado de la utilización de aminoácidos libres en la síntesis de proteínas durante el desarrollo de la semilla (Rangel *et al.*, 2004; Elhardallou *et al.*, 2015).

Cuadro 1. Perfil de aminoácidos del frijol caupí.

Aminoácido esencial	Cantidad en caupí (g 100 g proteína)
Histidina	1.85–2.47
Cisteína	0.84–1.08
Metionina	1.28–2.06
Isoleucina	4.17–5.46
Leucina	6.45–8.5
Lisina	7.3–8.74
Treonina	3.89–5.12

Fuente: Jayathilake *et al.* (2018).

También hay interés importante en los fragmentos derivados de proteínas llamados péptidos, los cuales se pueden usar en la prevención o el tratamiento de trastornos metabólicos crónicos. Los péptidos naturales se liberan como resultado de la hidrólisis o fermentación enzimática, de manera que actúan favorablemente dentro del cuerpo (Marques *et al.*, 2015). La capacidad de estos péptidos para crear condiciones fisiológicas favorables para las funciones corporales adecuadas los hace "bioactivos". Por ejemplo, se reporta que los péptidos que están clasificados como funcionales o biológicamente activos muestran actividades antihipertensivas, antidislipidémicas, antioxidantes, anticarcinogénicas, antidiabéticas y antimicrobianas (Barnes *et al.*, 2015). Los péptidos compuestos generalmente por 3 a 20 residuos de aminoácidos se liberan como resultado de la proteólisis enzimática de diversas proteínas animales y vegetales (Xiong *et al.*, 2013). Los resultados de hidrólisis ejercen sus funciones hipolipidémicas mediante la unión a ácido biliar, interrumpiendo micelas de colesterol en el tracto gastrointestinal y la alteración de la expresión actividad de la enzima adipocítico hepática y el gen de las proteínas lipogénicas (Marques *et al.*, 2015). Además, se descubrió que los aislados de proteína de caupí ayudan a prevenir el desarrollo de diabetes mellitus al imitar las acciones de la insulina (Barnes *et al.*, 2015). Por otro lado, se han demostrado que los péptidos de caupí actúan como antioxidantes y ayudan en la prevención del cáncer (Domínguez-Perles *et al.*, 2016). También se ha demostrado que los péptidos bioactivos poseen actividad citotóxica selectiva contra una amplia gama de líneas celulares de cáncer tanto *in vitro* como *in vivo* (Cicero *et al.*, 2017).

4.2.2 Fitoquímicos y antioxidantes

Al hablar de fitoquímicos (compuestos bioactivos) nos referimos a las sustancias naturales benéficas pero no nutritivas generadas de forma natural, y son biológicamente compuestos bioactivos presentes en el reino vegetal (Berdowska *et al.*, 2013; Chang *et al.*, 2016). Los alimentos que son fuente de alto contenido de estos compuestos son llamados alimentos funcionales, término definido por Hasler, (2002) como todos aquellos alimentos integrales, fortificados, enriquecidos o mejorados que proveen beneficios para la salud más allá de la provisión de nutrientes esenciales, por lo que el consumo de alimentos funcionales, con alto contenido de compuestos antioxidantes y fitoquímicos está relacionado con el incremento

de estos compuestos en el cuerpo humano (Benavides-Mendoza, 2000). En consecuencia, los alimentos funcionales se han convertido en una intervención dietética para cuidar y mejorar la salud contrarrestando los efectos negativos de la mala alimentación por el ritmo de vida actual de la población. Razón de la importancia del análisis de los fitoquímicos; y es que, estos fitoquímico suelen estar relacionadas la actividades biológicas (Zhao *et al.*, 2016).

Los polifenoles, flavonoides, antocianinas y taninos son un grupo diverso de fitoquímicos presentes en las semillas de leguminosas (Liyanage *et al.*, 2014). Estos compuestos pueden beneficiar a la salud humana al eliminar los radicales libres y prevenir el estrés oxidativo en el cuerpo (Zia *et al.*, 2013). También tienen algunas funciones biológicas, que incluyen antioxidantes, antiinflamatorios, anticancerígenos, hipolipidémicos, hipoglucemiantes y actividad inhibitoria de enzimas (Marques *et al.*, 2015).

Se ha encontrado gran diferencia intervarietal entre las variedades de caupí con respecto a su contenido fenólico total (Xu y Chang, 2012). Adjei-Fremah *et al.* (2015) observaron que el contenido fenólico total, los taninos condensados y la capacidad antioxidante de los extractos de semillas de varias variedades de caupí varió de 46.48 ± 0.78 a 119.61 ± 2.48 mg EAG 100 g^{-1} , 0.16 ± 0.005 a 0.22 ± 0.01 mg EC 100 g^{-1} y 53.20 ± 1.26 a 136.41 ± 2.11 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ET 100 g^{-1} respectivamente.

La testa de la semilla también contiene aproximadamente 10 veces más flavonoides en comparación con los cotiledones (Gutiérrez-Urbe *et al.*, 2011). El ácido cumárico y el ácido ferúlico son los ácidos fenólicos más abundantes en los cotiledones de caupí, mientras que, en la testa lo son el ácidos protocatéquico, *p* - hidroxibenzoico y cumarico. El ácido ferúlico es el único fenólico libre y el ácido gálico es el único fenólico presente en la testa de semilla de capí. El contenido de ácido merolico normalmente varía de trazas a $6.2 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ (Gutiérrez-Urbe *et al.*, 2011). Xu y Chang (2016) informaron una alta correlación positiva entre los compuestos fenólicos y la actividad antioxidante, lo que indica que la actividad antioxidante en las leguminosas está predominada por los compuestos fenólicos.

Salawu *et al.* (2014) informaron que el contenido total de flavonoides en el frijol caupí varió de 0.95 a 0.36 mg equivalentes de quercetina g^{-1} , donde los cultivares con testa de semilla más oscura tuvieron un mayor contenido total de flavonoides que los cultivares con

testa blanca. Apea-Bah *et al.* (2014) reportaron flavonoides en la harina de caupí, las principales subclases fueron flavonoles y flavan-3-ols. Del mismo modo Salawu *et al.* (2014) encontraron que la testa más oscura tuvo un mayor contenido de flavonoides totales en comparación con los cultivares de testa blancos.

El potencial antioxidante de las proteínas del caupí es bien conocido y se atribuye a los péptidos con una masa molecular inferior a 3 kDa (Petchiammal y Hopper, 2014). Aunque los mecanismos no están bien establecidos, los investigadores han encontrado una correlación positiva entre las propiedades antioxidantes y los aminoácidos hidrófobos y los aminoácidos aromáticos en los péptidos de caupí. Además, algunos aminoácidos de cadena ramificada, incluyendo leucina, isoleucina y fenilalanina, así como aminoácidos aromáticos como la tirosina, fenilalanina, triptófano y el aminoácido que contiene azufre cisteína, están involucrados en propiedades antioxidantes debido a su capacidad para donar protones a los radicales libres (Xiong *et al.*, 2013).

Por otro lado, la germinación mejora la calidad nutricional de las semillas de leguminosas. Doblado *et al.* (2007) encontraron un incremento del 50 al 60% en la capacidad antioxidante y un aumento en el contenido de vitamina C en el frijol caupí después de la germinación de las semillas. Luthria *et al.* (2014) indicaron la importancia de la germinación sobre el valor nutritivo de leguminosas, al observar un aumento en el contenido de β - caroteno, actividad antioxidante, contenido fenólico y contenido de flavonoides. Además, Khang *et al.* (2016) observaron que el contenido fenólico total del frijol caupí blanco no germinado y del caupí blanco germinado cambió con el tiempo, de 7.79 ± 0.02 a 19.46 ± 0.09 mg EAG g^{-1} peso seco, de 0 a 120 h respectivamente.

Del mismo modo, identificaron los compuestos fenólicos como ácido cafeico, ácido jeringo, vainillina, ácido ferúlico, ácido sinápico, ácido *p*- coumárico, ácido benzoico, ácido elágico y ácido cinámico. Aunque no hay información suficiente con respecto al contenido de vitamina C en semillas de caupí secas, un alto contenido de vitamina C fue reportado por Doblado *et al.* (2007) en semillas de caupí germinadas, que van de 23.3 a 25.2 mg 100 g^{-1} materia seca.

El frijol *Vigna* es la leguminosa que ha sido cultivada de forma extensiva alrededor del mundo al ser una fuente de energía, proteínas, vitaminas, minerales y fibra dietética, principalmente en países en desarrollo. El grano de este frijol contiene en promedio de 23 a

25 % de proteínas y de 50 a 67 % de carbohidratos (Deví *et al.*, 2015). La presencia del contenido significativo de proteínas, calorías y algunas vitaminas solubles en agua hacen que el caupí sea un alimento prometedor; además, estudios recientes demuestran que la germinación de la semillas de esta leguminosa incrementa la biodisponibilidad, digestibilidad y utilización de estos nutrientes, por ende sus germinados juegan un rol importante en la alimentación humana (Oboh *et al.*, 2000). Ejemplo de esto lo mencionan Mehta *et al.* (2007) quienes reportan un 19 % de aumento en el contenido de proteína cruda de caupí después de germinar la semilla.

Uppal y Bains (2012) reportaron un incremento en el contenido de proteína cruda de 8 a 11 % después de germinar las semillas, lo cual se le atribuyó a la pérdida de peso seco, principalmente a la degradación de los carbohidratos durante la respiración celular en la germinación. Por su parte Hahm *et al.* (2009) revelaron una disminución de 44 % en el contenido de grasa, lo cual puede deberse al agotamiento de la grasa almacenada que ayudó a las actividades catabólicas de la semilla durante la germinación. Deví *et al.* (2015) demostraron un aumento de 9.97 % en el contenido de calcio (Ca) durante la germinación, atribuido a la presencia de sales de calcio en el agua utilizada durante el proceso (Ranhotra *et al.*, 1977). También señalaron incrementos de 37.87 % en el contenido de vitamina C, esto porque durante la germinación hay síntesis de Vitamina C (Bibi *et al.*, 2008).

4.2.3 Compuestos anti-nutricionales

Los principales factores limitantes del consumo de caupí en la dieta de hoy en día incluyen una mala digestibilidad, la deficiencia de aminoácidos que contienen azufre y la presencia de factores antinutricionales. La presencia de algunos tipos de compuestos fenólicos, como proantocianidinas, ácido fítico, taninos, hemaglutininas, glucósidos cianogénicos, ácido oxálico, dihidroxifenilalanina y saponinas, puede ser nutricionalmente desventajosa para los seres humanos. Estos compuestos a menudo se denominan "anti-nutrientes", principalmente debido a, su capacidad para unir proteínas y quelatar iones metálicos divalentes (Ojwang *et al.*, 2013); por lo tanto, reducen la utilización eficiente de los nutrientes. Aparte de eso, los inhibidores de la enzima en el caupí, como los inhibidores de la proteasa, también se consideran compuestos antinutricionales (Júnior *et al.*, 2017).

El ácido fítico (mioinositol 1, 2, 3, 4, 5, 6 hexakidihidrógeno fosfato) es la principal forma de almacenamiento de fósforo en muchos frijoles secos. Se informa que el fitato disminuye la biodisponibilidad de los minerales y proteínas esenciales como resultado de la formación de complejos fitato-proteína y fitato mineral-proteína (Deshpande *et al.*, 1984). Sinha y Kawatra (2003) informaron que el contenido de ácido fítico de caupí no procesado es de 836.0 mg 100 g⁻¹. Las fitocistatinas, que participan en una variedad de procesos fisiológicos, incluido el desarrollo de semillas y la germinación en leguminosas, pueden actuar como inhibidores de la proteasa. Actúan como pseudo-sustratos y se unen estrechamente a la hendidura del sitio activo de las proteasas de cisteína y, por lo tanto, inactivan sus enzimas objetivo (Júnior *et al.*, 2017). Esta información es potencialmente útil cuando se diseñan pautas dietéticas para el consumo de estas leguminosas al mismo tiempo que se minimizan los posibles efectos negativos. Sin embargo, se pueden usar métodos de procesamiento adecuados para destruir esos factores antinutricionales y mejorar los niveles de biodisponibilidad, especialmente cuando se usa como alimento para bebés y niños.

4.3 Proceso de germinación de semillas

La germinación se define como el proceso fisiológico mediante el cual emergen y desarrollan a partir del embrión, las estructuras esenciales para la formación de una planta normal. El proceso inicia con la toma de agua por la semilla (imbibición) y termina con el alargamiento del eje embrionario y entonces surgen una variedad de actividades anabólicas y catabólicas, como la respiración, la síntesis de proteínas y la movilización de las reservas después de la absorción de agua (Desai, 2004).

Cuando la semilla es germinada, existe un gran cambio en el perfil nutricional al descomponerse los macronutrientes como, carbohidratos, proteínas, y lípidos en nutrientes más pequeños como los aminoácidos y azúcares solubles y con la emergencia radicular finaliza la germinación y se inicia el crecimiento del hipocótilo y posteriormente la plántula (Hermosillo-Cereceres *et al.*, 2011).

4.3.1 Germinados

Los germinados son ampliamente consumidos en países Orientales y Europeos desde la

antigüedad y han mostrado tener un efecto benéfico sobre la salud al reducir el riesgo de adquirir enfermedades e incrementar la longevidad (Ponce de León *et al.*, 2013). Además, los germinados representan una herramienta económica, sencilla y útil para mejorar la calidad nutricional y nutracéutica de cereales, crucíferas y leguminosas (Świeca, 2012).

Actualmente, los germinados están ganando popularidad en los países Occidentales, una amplia variedad de germinados frescos se venden como nuevo alimento saludable, debido a que son altamente nutritivos, y por su biodisponibilidad de minerales (Bains *et al.*, 2014).

En México, el consumo de germinados se reduce a una pequeña cantidad de la población, ya que sólo se distribuye en centros comerciales, restaurantes de comida china, tiendas naturistas y aún dentro de la población no se tiene el hábito de consumo. La semilla del frijol *Vigna* es poco conocida en presentación de germinados; esto se debe a que existe poca información sobre la preparación de este tipo de alimento, ya que los germinados se originaron en el continente asiático (Ramos-Aguilar y Villanueva-Verduzco, 1998).

Un prerrequisito para la producción de germinados, es la obtención de los parámetros técnicos necesarios para el desarrollo de sistemas eficientes de producción; y con ello, tener un aprovechamiento óptimo de especies como frijol *Vigna*, las cuales contienen un gran valor nutricional. Existe controversia respecto a la capacidad de conversión de semilla a germinado. En frijol mungo (*Vigna radiata*), se citan relaciones de 1:5 y de 1:7, con un ciclo de 3 a 4 días, cuando los germinados se cosechan de 4 cm (Domínguez, 1992; Langer y Hill, 1991); lo cual puede deberse a diferentes tamaños de cosecha y afectaría la palatabilidad del producto.

Al respecto Ramos-Aguilar y Villanueva-Verduzco (1998) encontraron que los mejores coeficientes de transformación en germinado de frijol mungo fue de 4.75 a los 7 días con 30 unidades calor, y que los germinados mayores a 4.5 cm de longitud adquieren un sabor menos agradable; por lo que los autores sugieren que la fecha óptima de cosecha debe de ser a los 7 días después de la siembra.

4.3.2 Importancia de los germinados de frijol caupí en la nutrición humana

La importancia de los germinados no solo se debe al alto contenido de nutrientes, también al contenido de fitoquímicos con actividades antioxidantes y la disminución de antinutrientes como taninos y ácido fítico (Pajak *et al.*, 2014; Pal *et al.*, 2017). Ya que al formarse a partir de la germinación de las semillas aumentan potencialmente su riqueza nutricional conforme se desarrollan. Durante este proceso germinativo se pueden encontrar nutrimentos que las semillas por si solas no tienen, en especial, vitaminas A, B, C, E (Gan *et al.*, 2017). Todos los germinados son nutritivos, debido a que contienen Ca, hierro (Fe), magnesio (Mg), potasio (P) y fósforo (K), además de un alto contenido de fibra y carecen de colesterol. Además, la germinación suele provocar un aumento de compuestos bioactivos que exhiben actividad antioxidante, contenido fenólico, aminoácidos y péptidos (López-Martínez *et al.*, 2017).

Estudios recientes muestran que la germinación en frijoles *Vigna* puede mejorar aún más los valores nutricionales y medicinales de las semillas. Por un lado, conduce al catabolismo y la degradación de los principales macronutrientes, como los carbohidratos, las proteínas y los ácidos grasos, acompañado del aumento de azúcares simples, aminoácidos libres y ácidos orgánicos. Por otro lado, puede reducir los factores antinutricionales e indigestibles, como los inhibidores de la proteasa y la lectina (Aguilera *et al.*, 2013). Además, puede acumular algunos metabolitos secundarios en las semillas comestibles, como la vitamina C y los polifenoles (Gan *et al.*, 2017) Además, se han reportado semillas comestibles germinadas con muchas bioactividades, tales como efectos antioxidantes, antidiabéticos y anticáncerígenos. Por lo tanto, la germinación es una buena forma de mejorar los beneficios para la salud de los consumidores (Sritongtae *et al.*, 2017).

Ejemplo de esto lo mencionan Mehta *et al.* (2007) quienes reportan un incremento del 19 % en el contenido de proteína cruda de caupí después de germinar la semilla. Uppal y Bains (2012) afirmaron un incremento en proteína cruda de 8 a 11 % después de germinar las semillas, lo cual se lo atribuyó a la pérdida del peso seco, principalmente la degradación de los carbohidratos a través de la respiración durante la germinación. Por su parte Hahm *et al.* (2009) revelaron una disminución del 44 % en el contenido de grasa, lo cual puede deberse

al agotamiento de la grasa almacenada que ayudó a las actividades catabólicas de la semilla durante la germinación. Deví *et al.* (2015) demostraron un aumento de 9.97 % en el contenido de Ca durante la germinación, atribuido a la presencia de sales de calcio en el agua utilizada durante el proceso (Ranhotra *et al.*, 1977). También señalaron incrementos de 37.87 % en el contenido de vitamina C, esto porque durante la germinación hay síntesis de Vitamina C (Bibi *et al.*, 2008).

4.4 Selenio

El selenio (Se) puede existir en cinco estados de oxidación: selenuro (2^-), selenio elemental (0), thioselenato (2^+), selenito (4^+) y selenato (6^+). La presencia y la concentración del Se está determinada por diversos factores tales como el pH, condiciones de óxido-reducción, solubilidad de sus sales, interacciones biológicas y reacciones cinéticas (Trejo-Téllez *et al.*, 2012). El Se fue descubierto en el año 1817 por el químico sueco Jöns Jacob von Berzelius al evaluar la influencia de la forma inorgánica del elemento sobre los organismos vivos (Kieliszek y Blazejak, 2016). Es un oligoelemento no metal y número atómico 34, localizado en el cuarto período de la tabla periódica en el grupo de los calcógenos. En el orden de abundancia de los elementos, ocupa el sexagésimo noveno lugar, es un elemento bastante escaso ya que su contenido en la corteza terrestre oscila de 0.01 a 2 mg kg⁻¹ (Gupta y Gupta, 2017). De los 88 elementos, este ocupa el septuagésimo en abundancia. Además, es un metaloide natural que se recicla fácilmente dentro de la litosfera, hidrosfera, atmósfera y biósfera (Paikaray, 2016).

La concentración de Se en los suelos agrícolas oscila entre 0.005 y 3.5 mg kg⁻¹, con un promedio general de 0.2 mg kg⁻¹ (Alloway, 2013); por lo contrario, en suelos seleníferos su concentración fluctúa de 5 a 1200 mg kg⁻¹ (Kaur *et al.*, 2014). La persistencia y forma predominante de este oligoelemento en el suelo está determinada por su geología, condiciones climáticas, vegetación, pH y presencia de microorganismos (Fordyce, 2013; Jones *et al.*, 2017). De manera similar al azufre (S), el Se puede existir en cinco estados de oxidación, estas formas de oxidación determinan su solubilidad y su disponibilidad (Trejo-Téllez *et al.*, 2012). El Se orgánico (Se_2^-), selenito (Se_4^+) y selenato (Se_6^+) son solubles en agua, y a su vez son las formas más disponibles para la planta (Trejo-Téllez *et al.*, 2012). El selenito está presente principalmente en suelos óxicos (oxisoles), en tanto que, el selenato

está presente en suelos de humedales anóxicos (Perrone *et al.*, 2015). Al respecto, Spadoni *et al.* (2007) mencionan que el selenito es menos móvil que el selenato, y sobre todo que pueden tener interacción con otros elementos trazas en el suelo (Fe y Mn), lo que limita la disponibilidad del elemento. Por otra parte, la deficiencia de Se en los suelos está presente en 40 países de diversas partes de África, América, Asia, Europa y Oceanía (Pilon-Smits, 2015); en tanto que, los suelos seleníferos se extienden principalmente en países como EE.UU, Canadá, Colombia, Venezuela, Australia, India, Irlanda, China y Rusia (Fordyce, 2013; Perrone *et al.*, 2015).

4.4.1 Selenio en las plantas

El Se es un elemento no esencial para las plantas superiores (Pilon-Smits *et al.*, 2009). Sin embargo, se considera un elemento benéfico en cantidades traza. El contenido de Se en las plantas es generalmente determinado por la cantidad biodisponible de Se en los suelos y factores de absorción de las plantas (White, 2016). Aunado a lo anterior, las plantas también absorben el Se del agua y puede acumularlo en sus tejidos y volatilizarlo (Trejo-Téllez *et al.*, 2012). Las plantas absorben el Se del suelo como selenato (SeO_4^{2-}) o selenito (SeO_3^{2-}); de manera que, la absorción del selenito es por un proceso activo parcialmente mediado por los transportadores de fosfato y acuaporinas (Li *et al.*, 2008). En cambio, el selenato es absorbido por medio de transportadores de sulfatos en la membrana plasmática (Terry *et al.*, 2000). El selenato es tomado por la planta de una manera preferente sobre el selenito o compuestos orgánicos de Se, y es acumulado tanto en raíces como compuestos orgánicos; mientras que el selenito tiende a acumularse en los tallos en forma de compuestos orgánicos (Li *et al.*, 2008).

Las plantas difieren en su capacidad de acumulación de este elemento en sus tejidos, con base en esto se han clasificado en tres grupos: a) no acumuladoras, b) semi-acumuladoras y c) acumuladoras. De manera que la concentración de Se que pueden acumular algunas plantas pertenecientes a los tres grupos es de $< 50 \text{ mg kg}^{-1}$, entre 50 a 100 mg kg^{-1} , y de 100 a 1000 mg kg^{-1} , respectivamente (Trejo-Téllez *et al.*, 2012; Perrone *et al.*, 2015). Por consiguiente, las especies no acumuladoras contienen altas concentraciones de selenometionina (SeMet), selenocisteína (SeCys) y selenio; mientras que las acumuladoras contienen cantidades mínimas de selenometionina y grandes cantidades de

selenito (NaSeO_3) y selenato de sodio (NaSeO_4) (Trejo-Téllez *et al.*, 2012). Los niveles tóxicos de Se en las plantas causan la generación de radicales superóxido, la sustitución del S en proteínas por Se, la sustitución de aminoácidos, cisteína (Cys) y metionina (Met), por seleno aminoácidos (SeCys y SeMet) durante la síntesis de proteínas y la inhibición de la metilación, lo que significa que el Se actúa como un pro-oxidante (Sors *et al.*, 2005).

4.4.2 Metabolismo del selenio en las plantas

Existe gran semejanza en el comportamiento químico de compuestos orgánicos de Se y su contraparte con el S. Sin embargo los compuestos orgánicos de Se tienen diferente estabilidad, propiedades y reacción (Back, 2011). El selenito es absorbido por la planta por medio de transportadores de fosfatos y acupurinas. Por el contrario, el selenato es absorbido por la planta por medio de transportadores de sulfatos (Li, *et al.*, 2008), ambos procesos de absorción son por transporte activo (Schiavon y Pilon-Smits, 2017a).

Una vez que el selenato es absorbido por las plantas es transportado a los plastidios o puede permanecer en el citoplasma, donde es asimilado por la vía de asimilación del S (Terry *et al.*, 2000; Van Hoewyk *et al.*, 2008). En esta ruta de asimilación el selenato es activado por la ATP sulfurilasa (ATPS) para formar adenosin 5'fosfoselenato (APSe), que se reduce a selenito en presencia de adenosin 5'fosfosulfato (APS) reductasa posteriormente a seleniuro a través de una vía no enzimática en presencia de glutatión (Schiavon y Pilon-Smits, 2017b). El seleniuro se asimila en SeCis y SeMet, estos seleno aminoácidos se incorporan a las proteínas de forma no específica y pueden causar toxicidad a la planta (Schiavon y Pilon-Smits, 2017b). Los seleno aminoácidos también pueden ser eliminados mediante la volatilización al convertirse en dimetilselenuros (Ellis y Salt, 2003), siendo el principal producto de la fitovolatilización. En las plantas acumuladoras, la Se-Cis es metilada y se convierte en dimetildiselenuros para ser volatilizado (Terry *et al.*, 2000); asimismo, otro mecanismo de detoxificación de Se es a través de la formación de Se elemental (Gonzalez-Morales *et al.*, 2017).

Cuando los seleno aminoácidos se incorporan inadvertidamente en proteínas, en sustitución de cisteína y metionina, la función de la proteína se afecta, y por lo tanto puede existir una toxicidad (Malagoli *et al.*, 2015). La mayoría de las plantas pueden metabolizar SeMet en dimetilselenuros, que puede ayudar a evitar la toxicidad (Terry *et al.*, 2000). Otro

mecanismo potencial de destoxificación de Se en las plantas es la conversión de SeCys a selenio elemental y alanina (Van Hoewyk *et al.*, 2008). Algunas plantas pueden ser capaces discriminar entre los análogos Se y S, estas plantas pueden, por ejemplo, metilar SeCys en metil-SeCys, que sirve como mecanismo eficaz de desintoxicación de Se ya que el metil-SeCys no se incorpora en proteínas (Malagoli *et al.*, 2015). Este proceso de metilación está mediado por la enzima SeCys metiltransferasa (SMT). Los taxones vegetales más conocidos que contienen esta enzima son las denominadas plantas acumuladoras de Se. Sin embargo, también se ha encontrado SMT en el brócoli (*Brassica oleracea* L.), y metil-SeCys en especies de *Allium* (González- Morales *et al.*, 2017).

Por otra parte, se ha reportado que la adición de Se incrementa el crecimiento de los vegetales y la acumulación de carbohidratos en el cloroplasto (Mozafariyan *et al.*, 2017); además, en un estudio realizado en *Arabidopsis thaliana* se encontró que el ácido jasmónico y el etileno reguló una respuesta de defensa a la acumulación de Se (Van Hoewyk *et al.*, 2008).

4.4.3 Selenio en la salud humana

La carencia de Se en los alimentos provoca deficiencias y patologías en el ser humano, afectando a más de un billón de habitantes en todo el mundo (Nothstein *et al.*, 2016), ya que este elemento es indispensable como cofactor de diversas enzimas, interviene en la síntesis de hormonas en la tiroides, en la síntesis del ADN, en el funcionamiento muscular, entre otros (Puccinelli *et al.*, 2017; Das *et al.*, 2018).

4.5 Biofortificación

4.5.1 Técnicas de biofortificación y su importancia

La biofortificación agronómica es una técnica rápida que se emplea para incrementar la concentración del oligoelemento en la parte comestible del cultivo, mediante el uso de fertilizantes. En tanto que la biofortificación genética de plantas se lleva a cabo por técnicas tradicionales de fitomejoramiento o ingeniería genética, y busca reducir el contenido de antinutrientes, e incrementar la concentración del microelemento (Hotz, 2013). Durante la última década, los estudios de biofortificación agronómica con Se en germinados se incrementaron debido a que este elemento es importante tanto en animales como en

humanos, y su deficiencia se relaciona con la disfunción del sistema inmunitario, la distrofia muscular, la osteocondropatía, la cardiomiopatía, la enfermedad de Keshan, el funcionamiento del sistema de defensa, problemas de capacidad productiva de los rumiantes y el daño en las membranas de los glóbulos rojos (Back, 2011; García-Bañuelos *et al.*, 2011; López *et al.*, 2012).

Los principales estudios se han realizado en germinados de interés (lenteja, soya, frijoles *Vigna*, garbanzo, brócoli, entre otros) puesto que constituyen una fuente de proteínas, fibra dietética, carbohidratos, vitaminas, fitoquímicos y nutrimentos esenciales en la dieta humana (Murphy *et al.*, 2018); así como para el aumento de compuestos bioactivos. Ávila *et al.* (2014) mencionan que se incrementó significativamente la síntesis de selenocisteína y glucosinolatos en los germinados de *Brassica* spp. biofortificados. Posteriormente Funes-Collado *et al.* (2013), biofortificaron germinados de lenteja (*Lens culinaris* L.), alfalfa (*Medicago sativa* L.) y soya con selenito y selenato de sodio, reportando que el contenido de Se en los germinados está en función del contenido de Se de la dosis usada.

Arscott y Goldman (2012) aplicaron selenato de sodio en germinados de brócoli (*Brassica oleracea* L.), frijol chino (*Vigna radiata* L. Wilczek) y cebolla (*Allium cepa* L.) encontraron que a bajas dosis de selenato ($127 \mu\text{M L}^{-1}$) se incrementaba el contenido de Se en los germinados sin afectar el crecimiento de los mismos. En estudios recientes con germinados de brócoli y mostaza (*Brassica alba* L. Rabenh), Bachiega *et al.* (2016) y Bodnar y Konieczka (2016), hallaron que el contenido de Se se incrementó significativamente, sin embargo solo los germinados biofortificados con selenito de sodio fueron capaces de convertir el Se inorgánico en seleno aminoácidos (selenometilselenocisteína y selenometionina).

Por otra parte, Tyszka-Czochara *et al.* (2016) reportaron que al biofortificar germinados de amaranto (*Amaranthus cruentus* L.) con Se, se incrementó el contenido de betanina. En lo referente a la biofortificación genética, Kumar *et al.* (2016) han documentado aspectos relevantes en el cultivo de lenteja (*Lens culinaris* Medik.), principalmente se busca reducir el contenido de fitoquímicos antinutricionales e incrementar el contenido de proteína cruda, microelementos, carbohidratos prebióticos, folatos y vitamina B9. Por otra parte, Lyons *et al.* (2005b) y Lyons *et al.* (2005a) evaluaron accesiones silvestres, comerciales y poblaciones de trigo cultivados en México y Australia, encontrando que el *Aegilops*

tauschii y el centeno (*Secale cereale* L.) almacenaron 42 y 35 % más Se en el grano en comparación con los otros cereales bajo condiciones de campo e hidroponía, respectivamente.

Zhao *et al.* (2009) evaluaron 150 líneas de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) y 25 líneas de trigo duro (*Triticum durum* L.), trigo farro (*Triticum dicoccum* L.), trigo espelta (*Triticum spelta* L.) y trigo escaña (*Triticum monococcum* L.), descubrieron que no hubo significancia en la concentración de Se en el grano de los trigos harineros y duros; sin embargo, en los trigos farro, escaña y espelta la concentración de Se en el grano fue mayor. Asimismo, Thavarajah *et al.* (2008) estudiaron el potencial genético de genotipos de lentejas cultivados en diferentes localidades, encontrando que la interacción genotipo y ambiente modificaron en hasta 58.3 % la concentración de Se en la semilla.

Hasta cierto punto, la movilidad de los oligoelementos, desde el suelo hasta la semilla está en función de los procesos fisiológicos, los genes que se expresen y el ambiente de crecimiento (Waters y Sankaran, 2011), por lo que para establecer un programa de biofortificación genética es necesario conocer adecuadamente las condiciones de crecimiento de cada cultivo. Al respecto, Watson *et al.* (2018) proponen el uso de cámaras de crecimiento para optimizar el tiempo de obtención de plantas mejoradas.

Al mismo tiempo, El Mehdawi *et al.* (2018) y Schiavon *et al.* (2015) estudiaron la expresión de transportadores de sulfato/selenato (SULTR) y cuatro enzimas APS en Brassicáceas acumuladoras y no acumuladoras, encontrando que la alta concentración de S no obstaculizó los transportadores SULTR1; 2 y SULTR2; 1, y las enzimas APS1, 2 y 4 en *Stanleya pinnata*, en comparación con *Brasica juncea*. Por otra parte, Pilon-Smits y LeDuc (2009) mencionan que la sobre expresión de la APS en *B. Juncea* puede incrementar la reducción del selenato, y hasta duplicar la acumulación de Se en tallos y raíces. Lo anterior puede incrementar la tolerancia, acumulación y posteriormente la volatilización de Se en plantas transgénicas, que incluso tengan la capacidad de fitorremediar suelos contaminados con el oligoelemento (Bañuelos *et al.*, 2005).

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Área de estudio

La presente investigación se llevó a cabo en las instalaciones de la División Académica de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, ubicada en la carretera Villahermosa-Teapa Km. 25. Ra. La Huasteca, 2ª sección, municipio de Centro, Tabasco, México; localizada a 17° 47' LN, 92° 57' LO y a 29 msnm, con promedio de 37 °C (CONAGUA, 2019).

5.2 Obtención de la semilla

Se utilizaron semillas de frijol caupí rojo. La siembra se estableció el 5 de noviembre de 2017, en bolsas de polietileno negro de 30 cm de alto, llenadas con tepetzil (sustrato inerte). Durante el ciclo del cultivo se aplicó la solución nutritiva de Hoagland y Arnon (1950).

Para suministrar los microelementos en la solución se utilizó el producto TradeCorp AZ®. El pH de la solución se ajustó entre 5.5 y 6.0 con ácido sulfúrico. Se Aplicó 0.5 L por maceta de solución nutritiva a partir de los tres días después de la siembra (ds) hasta los 20 ds (Márquez-Quiroz *et al.* 2015).

Los primeros 20 ds, las plántulas recibieron una solución nutritiva al 50 % de concentración de la solución de Hoagland y Arnon. En tanto que a partir de los 21 ds y hasta el final del ciclo, se aplicó 1 L por maceta de la solución nutritiva 100 % de concentración, además cada ocho días se adicionó 2 L de agua para lavar las sales del sustrato. La semilla usada se obtuvo en el ciclo agrícola primavera-verano 2018 de acuerdo a la metodología descrita por Márquez-Quiroz *et al.* (2015).

5.3 Producción de los germinados

Los germinados se obtuvieron por triplicado en el laboratorio de Desarrollo de Recursos bióticos de la División Académica de Ciencias Agropecuarias (DACA) , de acuerdo con la metodología descrita por Fernández-Orozco *et al.* (2008). Se pesó 75 g de semilla de frijol caupí rojo, por tratamiento y se desinfectaron en una solución acuosa de hipoclorito de sodio al 0.07 % por tres minutos, posteriormente se realizaron dos lavados con agua destilada. Subsecuentemente, las semillas se remojaron en 180 mL de agua destilada con el

tratamiento correspondiente durante 6 horas, pasado el tiempo, se escurrió la semilla y se colocó en una charola de plástico de 15 x 15 cm con papel filtro humedecido. Las charolas se introdujeron en el interior de una cámara de crecimiento (Lumistell® ICP-09), a 25 °C y 70 % de humedad relativa por cuatro días.

El riego se realizó cada 24 h después del ingreso de las charolas a la cámara de crecimiento, adicionando 20 mL de agua destilada con su tratamiento correspondiente. El Se se aplicó de forma independiente como selenito de sodio o selenato de sodio en concentraciones de 10, 20, 30 y 40 mg L⁻¹, dando un total de ocho tratamientos y un testigo (Cuadro 2), con tres repeticiones, bajo un diseño completamente al azar. Trascurrido el tiempo de germinación, los germinados se lavaron con agua destilada y se escurrieron.

5.4 Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con tres repeticiones. Con los datos obtenidos se realizaron pruebas de contrastes ortogonales a un $\alpha = 0.05$, mediante el paquete estadístico SAS, versión 9.4 para Windows (SAS, 2013).

Los contrastes ortogonales se utilizan cuando se tiene un conjunto de tratamientos cualitativos con estructura, de tal forma que es conveniente comparar un tratamiento contra otro tratamiento o contra otro conjunto de tratamientos. Es decir, se prueban hipótesis de la forma:

$$H_0: 3\tau_1 - \tau_2 - \tau_3 - \tau_4 = 0 \text{ vs } H_a: 3\tau_1 - \tau_2 - \tau_3 - \tau_4 \neq 0$$

Esta hipótesis compara el efecto del tratamiento 1 contra el promedio de los tratamientos de los efectos conjunto de los tratamientos 3 y 4. En general se prueban hipótesis de la forma:

$$H_0: \sum_{i=1}^t \lambda_i \tau_i = 0 \text{ vs } H_a: \sum_{i=1}^t \lambda_i \tau_i \neq 0, \text{ con } \sum_{i=1}^t \lambda_i = 0$$

A la combinación lineal de tratamientos: $\sum_{i=1}^t \lambda_i \tau_i$ se le llama contraste, en donde los λ_i

Son los coeficientes de los efectos de los tratamientos en el contraste.

$$\text{Dos contrastes son ortogonales si: } \sum_{i=1}^t \lambda_{i1} \lambda_{i2} = 0$$

En general, el método de contrastes es útil para las comparaciones pre-planeadas. Es decir, los contrastes se especifican antes de llevar a cabo el experimento y analizar los datos. En el presente trabajo, los contrastes planeados fueron los siguientes:

1. T1 vs T2 + T3 + T4 + T5 (tratamiento 1 contra tratamiento 2 + tratamiento 3 + tratamiento 4 + tratamiento 5).
2. T1 vs T6 + T7 + T8 + T9 (tratamiento 1 contra tratamiento 6 + tratamiento 7 + tratamiento 8 + tratamiento 9).
3. T2 vs T6 (tratamiento 2 contra tratamiento 6).
4. T3 vs T7 (tratamiento 3 contra tratamiento 7).
5. T4 vs T8 (tratamiento 4 contra tratamiento 8).
6. T5 vs T9 (tratamiento 5 contra tratamiento 6).

Cuadro 2. Distribución de los tratamientos de Na_2SeO_3 y Na_2SeO_4 para la biofortificación de germinados de frijol caupí rojo (*Vigna unguiculata*).

Tratamiento	Dosis (mg L^{-1} del compuesto)
1. Testigo	0
2. Na_2SeO_3	10
3. Na_2SeO_3	20
4. Na_2SeO_3	30
5. Na_2SeO_3	40
6. Na_2SeO_4	10
7. Na_2SeO_4	20
8. Na_2SeO_4	30
9. Na_2SeO_4	40

5.5 Variables evaluadas

5.5.1 Determinación de las variables agronómicas

Para la determinación de rendimiento, se pesaron los germinados en fresco en una báscula digital (Ohaus, modelo CS200-001), posteriormente, se midió la longitud y el diámetro del hipocótilo de 30 germinados, por tratamiento, con un vernier digital (Caliper, modelo

DC201-6). Se eliminó la testa y se secaron a una temperatura de 50 °C hasta obtener peso constante (72 h), posteriormente, los germinados se molieron en un molino de café (Krupps, GX410011V) y tamizaron con una maya No. 60. La muestra se guardó en bolsas de polietileno, protegidas de la luz, a 4 °C para realizar los análisis posteriores correspondientes.

5.5.2 Cuantificación del contenido mineral y proteína cruda

La concentración total de P, K, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn y Se se determinó utilizando el método de microfluorescencia de Rayos X (Micro-XRF), en un espectrómetro (Bruker, Tornado M4), en el Instituto Tecnológico de Conkal, Yucatan, México. El contenido total de nitrógeno y de proteína cruda ($N \times 6.25$) se determinaron mediante el método estándar micro-Kjeldahl (AOAC, 2002).

5.5.3 Extracción y cuantificación de los contenidos fenólicos totales, flavonoides, taninos y capacidad antioxidante

Se utilizó como solvente de extracción acetona al 80 %. Se tomó 0.1 g de la muestra y se colocó en tubos falcón de 15 mL, posteriormente se le agregó 10 mL de acetona al 80 %, los tubos fueron sellados para evitar fuga y se llevaron a maceración durante 24 h. Pasado el tiempo se centrifugó a 6000 rpm y a 4 °C, durante 15 min y se recuperó el sobranje (extracto), el cual se almacenó a 4 °C para la determinación de fenoles totales, flavonoides, taninos y capacidad antioxidante.

5.5.4 Cuantificación de fenoles totales (CFT)

El contenido de fenoles totales se determinó colorimétricamente empleando el reactivo de Folin Ciocalteu de acuerdo con la metodología descrita por Sultana *et al.* (2009). Se realizó una curva de calibración utilizando ácido gálico como solución madre a una concentración de 10-100 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Posteriormente en tubos eppendorf, se adicionaron 0.125 mL del extracto, 0.625 mL de reactivo Folin- Ciocalteu diluido (1:10) y 0.500 mL de carbonato de sodio (Na_2CO_3) al 7.5 %, se agitó en el vortex por tres segundos y se dejó reaccionar durante 45 minutos bajo oscuridad, pasado el tiempo se leyó la absorbancia a una longitud

de onda de 760 nm, los resultados se reportaron como mg equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto seco (mg EAG g⁻¹ peso seco). Los análisis se realizaron por triplicado.

5.5.5 Cuantificación de flavonoides

El contenido de flavonoides totales se determinó por el método propuesto por Barros *et al.* (2010), el cual se basa en la formación de un complejo flavonoide-aluminio. Para ello se mezclaron 500 µL del extracto, 2000 µL de agua destilada y 150 µL de Nitrato de Sodio al 5 % (w/v), se agitó y se dejó reposar 6 min, se adicionó 150 µL Cloruro de Aluminio al 10 % (w/v), se agitó y se dejó reposar 6 min y por último, se adicionó a la mezcla 2000 µL de Hidróxido de Sodio al 4 % y 200 µL de agua destilada, se agitó y se dejó reposar 15 min y se midió la absorbancia a 510 nm. Se preparó una curva de catequina (0.0156-1 mM) con agua destilada. Los resultados fueron expresados en mg equivalentes de catequina por g de muestra (mg EC g⁻¹) basado sobre peso seco.

5.5.6 Cuantificación de taninos

La determinación de taninos se realizó por diferencia entre el total de fenoles y fenoles no taninos, mediante la precipitación de los fenoles taninos con polivinilpolipirrolidona (PVPP). Los fenoles totales se determinaron utilizando una curva patrón de ácido tánico (10-100 µg mL⁻¹). Al extracto se le agregaron 100 mg de PVPP y 1 mL de agua destilada, se agitó en el vortex y se incubó a 4 °C por 15 min. Pasado el tiempo se agitó en el vortex, se centrifugó a (3000 rpm, 4 °C, 10 min), se recogió el sobrenadante que contiene sólo compuestos fenólicos simples que no son taninos (ya que estos se han precipitado junto con PVPP). Al sobrenadante se le determinó el contenido fenólico. El total de taninos se obtuvo de la diferencia entre los fenoles totales y los fenoles no taninos. El contenido de taninos totales se expresaron como equivalentes de ácido tánico por g de extracto (Makkar, 2003).

5.5.7 Determinación de la capacidad antioxidante

Para determinar la influencia de la biofortificación en la capacidad antioxidante se utilizaron los radicales ABTS Y DPPH.

5.5.7.1 Determinación de la capacidad antioxidante por el radical ABTS

La capacidad antioxidante total se determinó por el método espectrofotométrico del radical libre ABTS [catión radical 2,2-Azinobois-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonato)], descrito por Re *et al.* (1999), para lo cual en un frasco color ámbar se puso a reaccionar una pastilla de ABTS de 10 mg en 2.5 mL de agua destilada con 0.0017g de persulfato potasio. La mezcla se agitó vigorosamente, se cubrió con papel aluminio para protección de la luz y se dejó reposar 16 h a temperatura ambiente, pasado el tiempo, se tomaron 1.7 mL de la reacción ABTS y se diluyó en etanol absoluto aforado en un matraz de 100 mL; posteriormente se ajustó la absorbancia a 0.800 ± 0.010 utilizando etanol absoluto.

Para la determinación de la capacidad antioxidante, se preparó un blanco con 0.50 mL de acetona al 80 % y 0.950 mL de metanol, se agitó en el vortex por 3 segundos y se ajustó el espectrofotómetro (RAYLEIGH), se preparó un control utilizando 0.50 mL de acetona al 80 % y 0.950 mL de la solución de ABTS, para la muestra se mezclaron 0.50 mL del extracto y 0.950 mL de la solución ABTS, se agitó en el vortex por 3 segundos y se leyó la absorbancia a 734 nm. Los resultados se expresaron como mg mL^{-1} .

5.5.7.2 Determinación de la capacidad antioxidante por DPPH

Se determinó por el método del radical libre 2,2 difenil-picrilhidrazilo (DPPH) de acuerdo con la metodología de Brand-Williams *et al.* (1995), la cual consistió en pesar 0.006 g de DPPH y diluirlo en metanol al 80 % y aforar a 100 mL en un matraz Erlenmeyer, se cubrió con papel aluminio para protección de la luz y se dejó reposar 1 h. Posteriormente se preparó una solución madre de Trolox para la curva de calibración (1000 μM), para lo cual se pesaron 0.0125 g de Trolox, se diluyó en etanol absoluto y se aforó en un matraz aforado de 50 mL.

Para la determinación de la capacidad antioxidante, en tubos eppendorf se mezclaron 200 μL del extracto y 2 mL de la solución DPPH, se agitaron en el vortex por 3 minutos y se incubaron por 1 h, pasado el tiempo se agitó en el vortex por 3 segundos y se leyó a una absorbancia de 515 nm en un espectrofotómetro UV/VIS Rayleigh modelo UV-1800. Todas las mediciones se realizaron por triplicado.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La germinación y la biofortificación son dos métodos prácticos, naturales (caso de la germinación) y ampliamente utilizados en el mejoramiento de la concentración y la disponibilidad de nutrientes, así como para reducir factores antinutricionales presentes en las semillas de leguminosas, aumentar los beneficios para la salud y atenuar los efectos adversos de las enfermedades por el estilo de vida reciente (Nelson *et al.*, 2013). Un efecto benéfico importante de la biofortificación es que el rendimiento, nivel de Se, capacidad antioxidante y algunos compuestos bioactivos se pueden mejorar significativamente.

6.1 Longitud, diámetro y rendimiento del germinado

La longitud y el diámetro del hipocótilo son variables importantes debido a que su medición está relacionada con el rendimiento de los germinados. Los germinados producidos con la aplicación de selenito y selenato de sodio mostraron una reducción en la longitud del hipocótilo de 46.9 y 22.4 % (30 mg L^{-1} y 40 mg L^{-1}) respectivamente, en comparación con la longitud del hipocótilo de los germinados obtenidos en el testigo (Cuadro 3). Al mismo tiempo, se observó un incremento de hasta 9 % en el diámetro del hipocotilo al adicionar selenito y selenato de sodio respectivamente, en comparación con el testigo. Sin embargo, los germinados producidos en presencia de 40 mg L^{-1} de selenato de sodio mostraron un incremento en el rendimiento de 16.0 y 21.4 % respectivamente, en comparación a los germinados del testigo.

La reducción en la elongación del hipocótilo de los germinados en el presente estudio se le atribuye al estrés que se generó por la concentración de sales, lo que concuerda con los resultados obtenidos por Tie *et al.* (2018) quienes reportaron que al adicionar mg L^{-1} de Se se disminuye en un 36.7 % la longitud de los germinados de frijol mungo, con respecto al testigo. Por lo que las dosis utilizadas en el presente trabajo resultaron perjudiciales para el crecimiento de los germinados de frijol caupí rojo. En consecuencia, el incremento en la absorción de Se se encauzó para sintetizar compuestos importantes, a saber, seleno aminoácidos (Garduño-Zepeda y Márquez-Quiroz, 2018). Algo similar ocurrió en estudios previos, donde se encontró que altas concentraciones de Se en el suelo pueden resultar en

Cuadro 3. Longitud, diámetro y rendimiento de los germinados de frijol caupí rojo biofortificados con selenito y selenato de sodio.

Tratamientos	Dosis (mg L ⁻¹)	Longitud (cm)	Díametro (mm)	Rendimiento (g)
1. Testigo	0	4.9	2.2	82.1
2. Na ₂ SeO ₃	10	3.1	2.3	93.8
3. Na ₂ SeO ₃	20	2.9	2.4	93.3
4. Na ₂ SeO ₃	30	2.6	2.3	95.3
5. Na ₂ SeO ₃	40	3	2.3	84
6. Na ₂ SeO ₄	10	4.6	2.4	94.7
7. Na ₂ SeO ₄	20	4.4	2.4	96
8. Na ₂ SeO ₄	30	4.5	2.4	99.7
9 Na ₂ SeO ₄	40	3.8	2.2	95.3
Comparación de tratamientos (valores P de los contrastes ortogonales)				
1 vs 2 + 3 + 4 + 5		**	**	*
1 vs 6 + 7 + 8 + 9		**	**	**
2 + 3 + 4 + 5 vs 6 + 7 + 8 + 9		NS	NS	*
2 vs 6		NS	NS	NS
3 vs 7		NS	NS	NS
4 vs 8		**	**	NS
5 vs 9		*	**	*

*=significativo, **= altamente significativo al 0.05, NS= no significativo ($p \leq 0.05$), números 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 y 9 = tratamientos.

una menor tasa de crecimiento para los germinados biofortificados con Se (Lintschinger *et al.*, 2000); por lo tanto, los resultados del presente trabajo demuestran que el rendimiento puede reducirse significativamente bajo concentraciones elevadas de selenito y selenato de sodio. Estos resultados coinciden con los reportados por Arscott y Goldman (2012), quienes encontraron que al adicionar 25 mg L⁻¹ de selenato se incrementó la biomasa, mientras que al adicionar 240 mg L⁻¹ se decrementó el rendimiento de germinados de frijol mungo en 34 %.

Asimismo, Narváez-Ortiz *et al.* (2018) reportaron un incremento de la biomasa en tomate con la adición de 10 mg L⁻¹ de selenito de sodio, sin embargo, al adicionar 20 mg L⁻¹ se decrementó el rendimiento en 5.2 %, siendo esto congruente con los valores reportados por Funes-Collado *et al.* (2013), quienes al adicionar 1, 2.5 y 4 mg L⁻¹ de selenito y selenato de sodio concluyeron que al adicionar 2.5 mg L⁻¹ de selenito y selenato de sodio se decrementa la biomasa de los germinados de alfalfa, soya y lenteja en 79.1, 87.5 y 56 %

con respectivamente, mientras que al adicionar 4 mg L^{-1} de ambas sales se inhibió el crecimiento. De manera que a bajas concentraciones de las sales, se estimula el crecimiento, mientras que a concentraciones elevadas funcionan como pro oxidante y en consecuencia se reduce el rendimiento (Sea-Lee, Kerdchoechuen y Laohakunjit, 2012).

6.2 Contenido mineral y proteína cruda total

Se ha demostrado que la deficiencia nutricional en los alimentos es causa de diferentes enfermedades para la población mundial y que quienes son mayormente afectados son las mujeres embarazadas y niños (Lathamaq, 2002). Considerando lo anterior, la principal fuente de minerales para la humanidad en su mayoría son las plantas.

La presente investigación muestra diferencias significativas el incremento de algunos minerales mediante la biofortificación con sales de Se (Cuadro 4). La adición de 30 mg L^{-1} de selenito de sodio incrementó el contenido de Mn y Zn en 11.5 y 1046.3 % respectivamente, con respecto a los germinados obtenidos en el tratamiento testigo. Mientras que con la adición de 40 mg L^{-1} de selenito de sodio se incrementó el contenido de proteína cruda total, N, P, K, Ca, Mg, y Fe en 10.1, 10.9, 112, 63.9, 69.9, 39 y 42.8 % respectivamente, en comparación con los germinados obtenidos en el tratamiento testigo.

Por otra parte, la aplicación de 30 mg L^{-1} de selenato de sodio incrementó el contenido de proteína cruda y de N en 5.2 y 5.4 % respectivamente, con respecto a los germinados del testigo, mientras que con la aplicación de 40 mg L^{-1} de selenato de sodio, se incrementó el contenido P, K, Ca, Mg, Mn, Fe y Zn en 114.9, 85.1, 60.3, 19, 77.8, 61.5 y 142.5 % respectivamente, en comparación con los germinados del testigo. El efecto del Se en el contenido mineral de las partes vegetativas es variable dependiendo del cultivo. El K y Ca están involucrados en el mecanismo de tolerancia del Se (Hermosillo-Cereceres *et al.*, 2011).

Estos valores son congruentes con los datos reportados por Narváez-Ortiz *et al.* (2018) quienes alcanzaron un incremento de 18.3 y 125 % en el contenido de P al adicionar 2.5 y 5 mg L^{-1} de selenito en la solución de riego. De igual manera reportaron un incremento de 23.5, 9.5 y 60 % en el contenido de K, Ca y Mg respectivamente, al adicionar 2.5 mg L^{-1} de selenito de sodio vía fertirriego. Por su parte, Cuacua-Temiz *et al.* (2017) reportan que al adicionar 5, 15 y 25 $\mu\text{M L}^{-1}$ de una sal de Se se estimuló la absorción de K en hojas de

heliconia. En otro estudio, Hawrylak-Nowak (2008) reporta que la adición 5, 25, 50 y 100 $\mu\text{mol dm}^{-3}$ de selenito en germinado de maíz, incrementó el contenido de P, K, Ca y Mg en 389.3, 22.8, 476.7 y 23.6 % respectivamente, en comparación con el testigo. Asimismo, Hermosillo-Cereceres *et al.* (2011) incrementaron el contenido de K y Ca en 5.2 y 144.4 % respectivamente, con la adición de 40 y 80 $\mu\text{M L}^{-1}$ de selenato de sodio.

6.3 Contenido total de selenio

Los resultados obtenidos en el contenido de selenio mostraron diferencia significativa, los valores se muestran en el cuadro 4. El contenido de Se osciló entre 53.8 y 680 mg Kg^{-1} . La biofortificación con sales de selenio permitió la presencia del elemento en los germinados. Con base en lo anterior se registró un incremento conforme se acrecentaron las dosis de cada sal, alcanzando valores de hasta 602.11 y 680.85 mg Kg^{-1} con las dosis de 40 mg L^{-1} selenito y 40 mg L^{-1} de selenato de sodio respectivamente, en comparación con los germinados del testigo.

Aunado a lo anterior, estudios recientes han revelado que las semillas y germinados de leguminosas son altamente efectivas en la acumulación de selenio, a partir de una solución de riego, debido al alto contenido proteico que las identifica (25- 40 %). En otras palabras el tejido vegetal absorbe el selenio y lo metaboliza de diferentes maneras, por ejemplo, la incorporación de selenoaminácidos y proteínas (Malagoli *et al.*, 2015). Por lo tanto estas semillas se promueven como acumuladoras de Se.

Esto justifica que los resultados de la presente investigación se asemejen a los reportados por Tie *et al.* (2018) quienes al aplicar diferentes dosis de Se (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 y 12 mg L^{-1}), reportaron incrementos en la concentración total de selenio conforme se incrementó la dosis (3.2 hasta 7,275.1 $\mu\text{g kg}^{-1}$) en germinados de frijol mungo. Esto coincide con lo reportado por Arscott y Goldman (2012) quienes encontraron mayor concentración de selenio en germinados de frijol mungo al adicionar una dosis mayor de selenato de sodio. Lo anterior es congruente con los valores reportados por Diowksz *et al.* (2014), quienes al adicionar 10 y 20 mg L^{-1} de dióxido de selenio obtuvieron incrementos de 30 y 47 % en el contenido de Se en germinados de lenteja (*Lens culinaris*) y soya (*Glycine max* (L.)) respectivamente, en comparación con el testigo.

Cuadro 4. Contenido de proteína cruda total, nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K), calcio (Ca), magnesio (Mg), manganeso (Mn), hierro (Fe), zinc (Zn) y selenio (Se) en germinados de frijol caupi (*Vigna unguiculata*) en respuesta a la aplicación de diferentes dosis de selenito y selenato de sodio.

Tratamiento	Dosis (mg L ⁻¹)	Proteína cruda (%)	N	P	K	Ca	Mg (mg Kg ⁻¹ peso seco)	Mn	Fe	Zn	Se
1. Testigo	0	34.6	5500	1647	49383	9386	12298	76.6	421.4	421	0
2. Na ₂ SeO ₃	10	35.8	5700	1248	37496	7023	5369	58	349.3	1132	58
3. Na ₂ SeO ₃	20	35.7	5700	470	18862	4654	2021	20.4	163.3	817	61.2
4. Na ₂ SeO ₃	30	36.5	5800	1708	60769	10335	12982	85.4	427.1	4826	555.2
5. Na ₂ SeO ₃	40	38.1	6100	3492	80984	15956	17100	60.2	602.1	602	602.1
6. Na ₂ SeO ₄	10	33.5	5300	718	21636	3122	3534	17.9	143.5	664	53.8
7. Na ₂ SeO ₄	20	34.5	5500	1098	30051	5446	6880	44.8	201.7	762	134.5
8. Na ₂ SeO ₄	30	36.4	5800	830	27805	5427	5359	22.4	224.2	493	201.8
9. Na ₂ SeO ₄	40	30.8	4900	3540	91438	15047	14638	136.2	680.9	1021	680.9
Comparación de tratamientos (valores P de los contrastes ortogonales)											
1 vs 2 + 3 + 4 + 5		**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
1 vs 6 + 7 + 8 + 9		ns	ns	**	**	**	**	**	**	**	**
2 + 3 + 4 + 5 vs 6 + 7 + 8 + 9		**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
2 vs 6		**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
3 vs 7		ns	ns	**	**	**	**	**	**	**	**
4 vs 8		ns	ns	**	**	**	**	**	**	**	**
5 vs 9		**	**	**	**	**	**	**	**	**	**

Los resultados son significativamente diferentes de los valores iniciales en $P = < 0.001$ en base a la prueba de contraste ortogonal. * = significativo, ** = altamente significativo al 0.05, NS = no significativo ($p \leq 0.05$), números 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 y 9 = tratamientos.

De igual manera, Guardado-Felix *et al.* (2017) reportaron un incremento en el contenido de Se de 59 y 115 veces al adicionar 1 y 2 mg L⁻¹ de selenito de sodio en germinados de garbanzo, con respecto al testigo. Lazo-Velez *et al.* (2018) reportaron un incremento en el contenido de selenio de 100 veces (7.16 y 26.7 mg kg⁻¹), respecto al testigo (0.073 mg kg⁻¹), conforme la dosis aplicada se iba incrementando (25.4 a 62.2 mg L⁻¹ de selenito) en germinados de soya. Zhang *et al.* (2012) evaluaron siete dosis de aplicación (0, 25, 50, 75, 100, 125 y 150 mg L⁻¹) de selenito de sodio en germinados de garbanzo, obteniendo un contenido de Se de 5.85 µg g⁻¹ al adicionar 150 mg L⁻¹. En la investigación de Ávila *et al.* (2013) se recalcó que el selenato de sodio incrementó en 35 % el contenido de Se en germinados de brocolí (*Brassica oleracea var. italica*), en comparación con la aplicación de selenito de sodio.

6.4 Compuestos bioactivos

Por otro lado, existe escasa información sobre el efecto de la biofortificación con Se en el rendimiento, contenido mineral y contenido de compuestos bioactivos en germinados de frijol *Vigna*; sin embargo, trabajos recientes en otros cultivos comprueban que durante la germinación de semillas se logra un incremento en el contenido de algunos compuestos bioactivos como la selenocisteína y glucosinolatos en los germinados de *Brassica* spp. biofortificados (Ávila *et al.*, 2014), de igual manera se ha logrado incrementar el contenido de betanina al biofortificar germinados de amaranto (*Amaranthus cruentus* L.) con Se (Tyszkka-Czochara *et al.* (2016), además de incrementar bioactividades como la capacidad antioxidante en germinados de lupino (*Lupinus polyphyllus*) con aplicación de Se (Zielinska *et al.*, 2008).

6.4.1 Capacidad antioxidante

Los antioxidantes protegen al cuerpo humano contra los radicales libres, evitando el estrés oxidativo y enfermedades. La adición de 20 mg L⁻¹ de selenito de sodio incrementó en 18.9 % la capacidad antioxidante, con respecto al tratamiento testigo, mediante el uso del radical ABTS. Mientras que la aplicación de 20 y 30 mg L⁻¹ de selenato de sodio incrementó la capacidad antioxidante en 52.8 % y 52.8 % respectivamente, en comparación con el tratamiento testigo (Cuadro 5). Algo similar ocurrió al utilizar el radical DPPH, al

presentarse mayor capacidad antioxidante en los germinados producidos con 20 mg L⁻¹ de selenito de sodio y 20 mg L⁻¹ de selenato de sodio, logrando incrementos de hasta el 373, 738.4 y 546.1 % respectivamente en comparación con los germinados del testigo.

Los resultados del presente trabajo presentan similitudes a los reportados por Zielinska *et al.* (2008), quienes reportaron que al adicionar 8 mg L⁻¹ de selenito de sodio y 8 mg L⁻¹ de selenato de sodio en germinados de lupino (*Lupinus polyphyllus*), se incrementó la actividad antioxidante en 32 % y 21 % respectivamente, con respecto al testigo. Concordante son los resultados obtenidos por Bachiega *et al.* (2016) quienes reportaron que los germinados de brócoli biofortificados con 50 µM de selenato de sodio mostraron mayor actividad antioxidante al emplear el radical ABTS respecto al testigo.

6.4.2 Contenido de fenoles totales

En el presente trabajo las muestras con mayor capacidad antioxidante también tuvieron un mayor contenido fenólico, lo que puede explicarse por el hecho de que los compuestos fenólicos son los principales antioxidantes naturales de los frijoles. La presencia de selenito y selenato de sodio modificó estadísticamente el contenido fenólico total en los germinados biofortificados en relación a los germinados del testigo (Cuadro 5), siendo los germinados producidos con las dosis de 20 mg L⁻¹ de selenito de sodio, y 10 y 20 mg L⁻¹ de selenato de sodio quienes presentaron un mayor incremento en el contenido fenólico total con un 20.8 %, y 19.4 % y 19.4 % respectivamente, en comparación a los germinados del testigo.

Esto concuerda con lo reportado por Bachiega *et al.* (2016) quienes al biofortificar con 10 mg L⁻¹ de selenato incrementaron el contenido fenólico en 20.4 % respecto al testigo. Este resultado se podría explicar con experiencias de otros autores como lo reportado por Gasecka *et al.* (2015) quienes evaluaron la adición de selenito y selenato de sodio y concluyeron que el contenido fenólico y contenido de flavonoides total se incrementó en 32.2 % y 47 % respectivamente, con respecto al testigo.

6.4.3 Contenido flavonoides totales

Los resultados obtenidos en el presente trabajo muestran diferencia significativa en los contrastes evaluados para el contenido de flavonoides totales (Cuadro 5), se logró un incremento de 10.7 % con la adición de 30 mg L⁻¹ de selenito de sodio, en comparación a

los germinados del testigo. Lo anterior concuerda con lo reportado por Zhu *et al.*, (2017) quienes al aplicar 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 mg kg⁻¹ de selenito de sodio en plantas de *Codonopsis lanceolata*, alcanzaron incrementos del 56.7 % en el contenido de flavonoides con respecto a las plantas del testigo.

Algo similar fue reportado por Thiruvengadam y Chung (2015), quienes al adicionar 5 mg L⁻¹ de selenito de sodio en plantas de rábano (*Brassica rapa*) incrementaron el contenido de flavonoides en 43.7 % en comparación con las plantas del testigo. Sin embargo, con la adición de selenato de sodio se decrementó el contenido de flavonoides totales 86 % en comparación con los germinados del testigo. Al respecto, Chu *et al.* (2014) demostraron que el Se incrementa la actividad de la enzima fenilalanina amonio-liasa (enzima clave en la biosíntesis de compuestos fenólicos), lo que lleva a un decremento en el contenido de fenilalanina (clave en el punto de partida para la síntesis de compuestos fenólicos). En este sentido, los resultados del presente trabajo probablemente se debieron al incremento en la actividad enzimática de la fenilalanina amonio-liasa al adicionar selenito de sodio, dicha enzima también es clave en los mecanismos de defensa vegetal.

6.4.4 Contenido de taninos totales

Los resultados del presente trabajo muestran que hubo diferencia significativa respecto al contenido de taninos para los contrastes 1, 2 y 7 (Cuadro 5). Se registró un decremento del 17.8 % y 25 % con la dosis de 20 mg L⁻¹ de selenito de sodio y 40 mg L⁻¹ de selenato de sodio respectivamente, en comparación con los germinados del testigo. Estas disminuciones se atribuyen al aumento de la actividad de la polifenol oxidasa y otras enzimas catabólicas, ya que en presencia de Se las enzimas se activan y esto resulta en la hidrólisis de varios componentes, incluidos los carbohidratos, proteínas, así como compuestos fenólicos (Deshpande *et al.*, 1986).

Cuadro 5. Capacidad antioxidante total (equivalentes de trolox/g de materia seca), fenoles totales (equivalentes de ácido gálico/g de materia seca), flavonoides totales (equivalentes de catequina/g de materia seca) y taninos totales (equivalentes de ácido tánico/g de peso seco) en germinados de frijol caupí (*Vigna unguiculata*) biofortificados con selenito de sodio y selenato de sodio.

Tratamientos	Dosis (mg L ⁻¹)	Capacidad antioxidante		Fenoles (mg EAG g ⁻¹)	Flavonoides (mg EC g ⁻¹)	Taninos (mg EAT g ⁻¹)
		ABTS (mg ET g)	DPPH (mg ET g)			
1. Testigo	0	19.5	2.6	7.2	0.84	5.6
2. Na ₂ SeO ₃	10	18.8	9.1	5.1	0.87	4.8
3. Na ₂ SeO ₃	20	23.2	12.3	8.7	0.92	4.6
4. Na ₂ SeO ₃	30	18.5	11.2	5.6	0.93	4.7
5. Na ₂ SeO ₃	40	15.9	6.9	5.0	0.91	4.8
6. Na ₂ SeO ₄	10	28.2	13.1	8.6	0.15	4.7
7. Na ₂ SeO ₄	20	29.8	21.8	8.6	0.12	4.7
8. Na ₂ SeO ₄	30	29.8	16.8	8.4	0.13	4.7
9. Na ₂ SeO ₄	40	28.4	13.2	7.8	0.17	4.2
Comparación de tratamientos (valores P de los contrastes ortogonales)						
1 vs 2 + 3 + 4 + 5		NS	**	**	**	**
1 vs 6 + 7 + 8 + 9		**	**	**	**	**
2 + 3 + 4 + 5 vs 6 + 7 + 8 + 9		**	**	**	**	NS
2 vs 6		**	**	**	**	NS
3 vs 7		**	**	**	**	NS
4 vs 8		**	*	**	**	NS
5 vs 9		**	**	**	**	**

*=significativo, **= altamente significativo al 0.05, NS= no significativo ($p \leq 0.05$), números 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 y 9 = tratamientos.

VII. CONCLUSIÓN

La biofortificación con sales de selenio modificó el rendimiento, capacidad antioxidante, contenido de compuestos bioactivos y contenido de selenio de los germinados de frijol caupí rojo. El mayor rendimiento se alcanzó con la dosis de 30 mg L⁻¹ de selenito y 30 mg L⁻¹ selenato de sodio, mientras que el mayor incremento en el contenido de selenio se obtuvo con 40 mg L⁻¹ de ambas sales. Asimismo, la mayor capacidad antioxidante y contenido de fenoles totales se obtuvo con la dosis de 20 mg L⁻¹ selenito y 20 mg L⁻¹ de selenato de sodio, el contenido de flavonoides se incrementó a partir de la adición de 20 mg L⁻¹ de selenito de sodio, mientras que el contenido de taninos totales decreció con la aplicación de las sales de selenio. Por tanto la biofortificación de germinados con sales de selenio se propone como una alternativa viable para incrementar el contenido de compuestos bioactivos, contenido nutritivo y contenido de selenio en los germinados de frijol.

Con los resultados obtenidos en el presente estudio se sugiere que la aplicación de selenito de sodio podría ser un mecanismo de defensa potencial contra patógenos en futuras investigaciones.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- Adjei-Fremah S., Jackai LE., Worku M. (2015) Analysis of phenolic content and antioxidant properties of selected cowpea varieties tested in bovine peripheral blood. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 10, 235-245.
- Aguilera Y., Díaz MF., Jiménez T., Benítez V., Herrera T., Cuadrado C., Martín- Cabrejas MA. (2013) Changes in nonnutritional factors and antioxidant activity during germination of nonconventional legumes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 34, 8120–8125.
- Alloway BJ. (2013) Bioavailability of elements in soil. En: *Essentials of medical geology: Revised edition* (Eds. Selinus O), pp. 351-373. Dordrecht. Springer Netherlands.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). (2002) *Official Methods of Analysis of the AOAC*. Washington, D.C. USA. In: Horwitz, W. (Ed.). *The Association of Official Analytical Chemists*.
- Apáez-Barrios P., Escalante-Estrada JAS., Rodríguez-González MT. (2013) Producción De Vaina Verde En Frijol Chino Y Tipo De Espaldera En Clima Cálido. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 19, 129-140.
- Apea-Bah FB., Minnaar A., Bester MJ., Duodu, KG. (2014) Does a sorghum–cowpea composite porridge hold promise for contributing to alleviating oxidative stress?. *Food chemistry*, 157, 157-166.
- Arcott S y Goldman I. (2012). Biomass effects and selenium accumulation in sprouts of three vegetable species grown in selenium-enriched conditions. *Hortscience*, 47, 497-502.
- Avanza MV., Chaves MG., Acevedo BA., Añón MC. (2012) Functional properties and microstructure of cowpea cultivated in north-east Argentina. *LWT - Food Science and Technology*, 49, 123-130.
- Ávila FW., Faquin V., Yang Y., Ramos SJ., Guilherme L RG., Thannhauser, TW., Li L. (2013) Assessment of the anticancer compounds Se-methylselenocysteine and glucosinolates in Se-biofortified broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) sprouts and florets. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 6216-6223.
- Ávila FW., Yang Y., Faquin V., Ramos SJ., Guilherme LRG., Thannhauser TW., Li L. (2014) Impact of selenium supply on Se-methylselenocysteine and glucosinolate accumulation in selenium-biofortified brassica sprouts. *Food Chemistry*, 165, 578-586.
- Bachiega P., Salgado JM., de Carvalho JE., Ruiz ALTG., Schwarz K., Tezotto T., Morzelle MC. (2016) Antioxidant and antiproliferative activities in different maturation stages of broccoli (*Brassica oleracea italica*) biofortified with selenium. *Food Chemistry*, 190, 771-776.
- Back TG. (2011) Selenium: Organoselenium chemistry. *in: Encyclopedia of inorganic and bioinorganic chemistry* (Eds. John Wiley y Sons, Ltd.)

- Bains K., Uppal V., Kaur H. (2014) Optimization of germination time and heat treatments for enhanced availability of minerals from leguminous sprouts. *Journal of Food Science and Technology*, 51, 1016-1020.
- Bañuelos G., Terry N., LeDuc DL., Pilon-Smits EAH., Mackey B. (2005) Field trial of transgenic Indian mustard plants shows enhanced phytoremediation of selenium-contaminated sediment. *Environmental Science and Technology* 39, 1771-1777.
- Barnes M., Uruakpa F., Udenigwe C. (2015) Influence of cowpea (*Vigna unguiculata*) peptides on insulin resistance. *Journal of Nutrition Health Food Sciences*, 3, 1-3.
- Barros L., Heleno SA., Carvalho AM., Ferrerira I CFR. (2010) Lamiaceae often used in Portuguese folk medicine as a source of powerful antioxidants: Vitamins and phenolics. *LWT-Food Science and Technology*, 43, 544-550.
- Bejarano A., Ramirez-Bahena MH., Velazquez E., Peix A. (2014) *Vigna unguiculata* is nodulated in Spain by endosymbionts of Genisteeae legumes and by a new symbiovar (vignae) of the genus *Bradyrhizobium*. *Systematic and Applied Microbiology*, 37, 533-540.
- Benavides-Mendoza A. (2000) Absorción y asimilación de hierro en las plantas. *Ciencia UANL*. 3, 50-57.
- Berdowska I., Zielinski B., Fecka I., Kulbacka J., Saczko J., Gamian A. (2013) Cytotoxic impact of phenolics from Lamiaceae species on human breast cancer cells. *Food Chemistry*, 141, 1313-1321.
- Bibi N, Aurang Z, Amal BK, Mohammad SK. (2008) Effect of germination time and type of illumination on proximate composition of chickpea seed (*Cicer arietinum* L.). *Am J Food Technol*, 3, 24–32.
- Bodnar M, Konieczka P. (2016) Evaluation of candidate reference material obtained from selenium- enriched sprouts for the purpose of selenium speciation analysis. *LWT - Food Science and Technology*, 70, 286-295.
- Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C. (1995) Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Food Science and Technology*, 28, 25-30.
- Campbell BC. (2014) Just eat peas and dance: Field peas (*Vigna unguiculata*) and food security in the Ozark Highlands, US. *Journal of Ethnobiology*, 34, 104-122.
- Carunchia M., Wang L., Han J. (2015) The use of antioxidants in the preservation of snack foods. *Handbook of antioxidants for food preservation*, 447-474.
- Chang SK., Alasalvar C., Shahidi F. (2016) Review of dried fruits: Phytochemicals, antioxidant efficacies, and health benefits. *Journal of Functional Foods*, 21, 113-132.
- Chu J. Z., Yao X. Q., Si C., Liu G. X., Ma CH. (2014) Responses of physiological traits and nutritional ingredients content in flowers of medicinal chrysanthemum to selenium application at different growth stages. *Journal of Food Nutrition. Research*, 2, 575-581.

- Cicero, A. F., Fogacci, F., Colletti, A. (2017) Potential role of bioactive peptides in prevention and treatment of chronic diseases: a narrative review. *British journal of pharmacology*, 174, 1378-1394.
- CONAGUA. Comisión Nacional del Agua. (2016) resúmenes mensuales de temperatura y lluvias. disponible en: <http://smn.cna.gob.mx/tools/DATA/Climatolog%C3%ADa/Pron%C3%B3stico%20clim%C3%A1tico/Temperatura%20y%20Lluvia/TMED/2016.pdf>. Fecha de consulta: 19 de enero de 2019.
- Cuacua-Temiz C., Trejo-Téllez LI., Velasco-Velasco J., Gómez-Merino FC. (2017). Efecto de los elementos benéficos Al, Co, Se y Si en la nutrición de heliconias (*Heliconia* sp.). *Agroproductividad*, 10.
- Das A, Laha S, Mandal S, Pal S, Siddiqui MW. (2018) Chapter 14 – Preharvest biofortification of horticultural crops. En: *Preharvest modulation of postharvest fruit and vegetable quality* (Eds. Siddiqui MW). Academic Press, 381-434.
- de Almeida-Costa GE., da Silva Queiroz-Monici K., Reis SM. PM. and de Oliveira AC. (2006) Chemical composition, dietary fibre and resistant starch contents of raw and cooked pea, common bean, chickpea and lentil legumes. *Food chemistry*, 94, 327-330.
- Desai BB. (2004) *Seed Handbook, Biology, Production, Processing, and Storage*. Second edition. Marcel Dekker, INC. USA. pp. 787.
- Deshpande SS., Cheryan M., Salunkhe DK., Luh, BS. (1986) Tannin analysis of food products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 24, 401-449.
- Deshpande SS., Cheryan, M. (1984) Effects of phytic acid, divalent cations, and their interactions on α -amylase activity. *Journal of Food Science*, 49, 516-519.
- Devi CB., Kushwaha A., Kumar A. (2015) Sprouting characteristics and associated changes in nutritional composition of cowpea (*Vigna unguiculata*). *India. Journal of Food Science and Technology*, 52, 6821-6827.
- Diowksz A., Kordialik-Bogacka E. y Ambroziak W. (2014) Se-enriched sprouted seeds as functional additives in sourdough fermentation. *LWT-Food Science and Technology*, 56, 524-528.
- Doblado R., Frías J., Vidal-Valverde C. (2007) Changes in vitamin C content and antioxidant capacity of raw and germinated cowpea (*Vigna sinensis* var. carilla) seeds induced by high pressure treatment. *Food Chemistry*, 101, 918-923.
- Domínguez G. de DB. (1992) *Germinados, el Alimento más Perfecto y Completo*. 12a Edición. Editorial Posada. México, D.F. 159 p.
- Domínguez-Perles R., Machado N., Abraão AS., Carnide V., Ferreira L., Rodrigues M., Barros AI. (2016) Chemometric analysis on free amino acids and proximate compositional data for selecting cowpea (*Vigna unguiculata* L.) diversity. *Journal of Food Composition and Analysis*, 53, 69-76.

- Duranti M. (2006) Grain legume proteins and nutraceutical properties. *Fitoterapia*, 77, 67-82.
- El Mehdawi AF., Jiang Y., Guignardi ZS., Esmat A., Pilon M., Pilon-Smits EAH., Schiavon M. (2018) Influence of sulfate supply on selenium uptake dynamics and expression of sulfate/selenate transporters in selenium hyperaccumulator and nonhyperaccumulator brassicaceae. *New Phytologist*, 217, 194-205.
- Elhardallou SB., Khalid II., Gobouri AA., Abdel-Hafez SH. (2015) Amino acid composition of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) flour and its protein isolates. *Food and Nutrition Sciences*, 6, 790.
- Ellis DR y Salt DE. (2003) Plants, selenium and human health. *Current Opinion in Plant Biology*, 6, 273-279.
- El-Niely H.F. (2007) Effect of radiation processing on antinutrients, in-vitro protein digestibility and protein efficiency ratio bioassay of legume seeds. *Radiation Physics and Chemistry*, 76, 1050-1057.
- FAO (2017) Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. El estado mundial de la agricultura y la alimentación. En: <http://www.fao.org/3/a-i4175e.pdf>. Revisado el 25 de noviembre 2017.
- FAO., IFAD., UNICEF., WHO. (2017) The estate of Food Security and Nutritión in the World: Building Resilience for Peace and Food Insecurity. FAO, ROME.
- Fernandes S CA., Campos C DC., Roberto da Silva W., Boiteux LS. (2012) Genetic analysis of total seed protein content in two cowpea crosses. *Crop Science*, 52, 2501-2506.
- Fernandez-Orozco R., Frias J., Zielinski H, Piskula MK., Kozłowska H., Vidal- Valverde C. (2008) Kinetic study of the antioxidant compounds and antioxidant capacity during germination of *Vigna radiata* cv. emerald, *Glycine max* cv. jutro and *Glycine max* cv. merit. *Food Chemistry*, 111, 622-630.
- Fordyce FM. (2013) Selenium deficiency and toxicity in the environment. En: *Essentials of medical geology: Revised edition* (Eds. Selinus O) Dordrecht. Springer. 375-416.
- Funes-Collado V, Morell-Garcia A, Rubio R, López- Sánchez JE. (2013) Study of selenocompounds from selenium-enriched culture of edible sprouts. *Food Chemistry*, 141, 3738-3743.
- Gan RY., Lui, WY., Wu K., Chan CL., Dai SH., Sui ZQ., Corke, H. (2017) Bioactive compounds and bioactivities of germinated edible seeds and sprouts: An updated review. *Trends in food science and technology*, 59, 1-14.
- García-Bañuelos ML., Hermosillo-Cereceres MA., Sánchez E. (2011) The importance of selenium biofortification in food crops. *Current Nutrition and Food Science*, 7, 181-190.
- Gąsecka M., Mleczek M., Siwulski M., Niedzielski P., & Kozak L. (2016) Phenolic and flavonoid content in *Herichium erinaceus*, *Ganoderma lucidum*, and *Agrocybe aegerita* under selenium addition. *Acta alimentaria*, 45, 300-308.

- González-Morales S., Pérez-Labrada F., García-Enciso EL., Leija-Martínez P., Medrano-Macías J., Dávila-Rangel IE., Juárez-Maldonado A., Rivas-Martínez EN., Benavides Mendoza A. (2017) Selenium and sulfur to produce *Allium* functional crops. *Molecules*, 22, 558.
- Guardado-Félix D., Serna-Saldivar SO., Cuevas-Rodríguez EO., Jacobo-Velázquez DA., & Gutiérrez-Urbe JA. (2017) Effect of sodium selenite on isoflavonoid contents and antioxidant capacity of chickpea (*Cicer arietinum* L.) sprouts. *Food chemistry*, 226, 69-74.
- Gupta M y Gupta S. (2017) An overview of selenium uptake, metabolism, and toxicity in plants. *Frontiers in Plant Science*, 7, 2074.
- Gupta P., Singh, R., Malhotra S., Boora K. S., Singal, H. R. (2010) Characterization of seed storage proteins in high protein genotypes of cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 16, 53-58.
- Gutiérrez-Urbe JA., Romo-Lopez L., Serna-Saldivar SO. (2011) Phenolic composition and mammary cancer cell inhibition of extracts of whole cowpeas (*Vigna unguiculata*) and its anatomical parts. *Journal of Functional Foods*, 3, 290-297.
- Hahm TS, Park SJ, Lo YM. (2009) Effect of germination on chemical composition and functional properties of sesame (*Sesamum indicum* L.) seeds. *Bio Technol*, 100,1643–1647.
- Hasler CM. (2002) Functional foods: benefits, concerns and challenges a position paper from the American Council on Science and Health. *The Journal of Nutrition*, 132, 3772-3781.
- Hawrylak-Nowak B. (2008) Effect of selenium on selected macronutrients in maize plants. *Journal of Elementology*, 13, 513-519.
- Hermosillo-Cereceres MA., Sanchez-Chavez E., Balandran-Quintana RR., Mendoza-Wilson AM., Guevara-Aguilar A., Munoz-Marquez E., Garcia-Banuelos ML. (2011) Ionome variation in bean plant growth under different Se forms and application rates. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 9, 374-378.
- Hotz C. (2013). Biofortification. En: *Encyclopedia of human nutrition* (third edition) (Ed. Benjamin C), pp. 175-181. Waltham. Academic Press.
- Hussain MA y Basahy AY. (1998) Nutrient composition and amino acid pattern of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp, Fabaceae) grown in the Gizan area of Saudi Arabia. *International journal of food sciences and nutrition*, 49, 117-124.
- Iqbal A, Khalil IA, Ateeq N, Sayyar Khan M. (2006) Nutritional quality of important food legumes. *Food Chemistry*, 97, 331-335.
- Jones GD, Droz B, Greve P, Gottschalk P, Poffet D, McGrath SP, Seneviratne SI, Smith P, Winkel LHE (2017). Selenium deficiency risk predicted to increase under future climate change. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114, 2848-2853.
- Júnior JEM., Valadares NF., Pereira HDM., Dyszy FH., da Costa Filho AJ., Uchôa AF., y Grangeiro TB. (2017) Expression in *Escherichia coli* of cysteine protease inhibitors from cowpea (*Vigna unguiculata*): The crystal structure of a single-domain cystatin gives

insights on its thermal and pH stability. International journal of biological macromolecules, 102, 29-41.

- Kanetro B. (2015). Hypocholesterolemic properties of protein isolate from cowpeas (*Vigna unguiculata*) sprout in normal and diabetic rats. *Procedia Food Science*, 3, 112-118.
- Kaur N, Sharma S, Kaur S, Nayyar H. (2014) Selenium in agriculture: A nutrient or contaminant for crops? *Archives of Agronomy and Soil Science* - ce 60: 1593-1624.
- Khang D., Dung T., Elzaawely A., Xuan, T. (2016) Phenolic profiles and antioxidant activity of germinated legumes. *Foods*, 5, 27.
- Kieliszek M y Blazejak S. (2016) Current knowledge on the importance of selenium in food for living organisms: A review. *Molecules* 21, 609.
- Kirse A y Karklina D. (2015) Integrated evaluation of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) and maple pea (*Pisum sativum* var. *Arvense* L.) spreads. *Agronomi Research*, 13, 956–96
- Kumar J, Gupta DS, Kumar S, Gupta S, Singh NP. (2016) Current knowledge on genetic biofortification in lentil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64, 6383-6396.
- Lagunes-Espinoza LdC, Gallardo-López F, Becerril-Hernández H, Bolaños- Aguilar E. (2008) Diversidad cultivada y sistema de manejo de *Phaseolus vulgaris* y *Vigna unguiculata* en la región de la Chontalpa, Tabasco. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 14, 13-21.
- Latham MC. (2002) Human nutrition in the developing world. Spanish version. Food and Nutrition Series No. 29. FAO. Rome, Italy. 510 p.
- Lazo-Vélez MA., Guardado-Félix D., Avilés-González J., Romo-López I., Serna-Saldívar., SO. (2018) Effect of germination with sodium selenite on the isoflavones and cellular antioxidant activity of soybean (*Glycine max*). *LWT*, 93, 64-70.
- Li H., F McGrath SP., Zhao FJ. (2008) Selenium uptake, translocation and speciation in wheat supplied with selenate or selenite. *New Phytologist*, 178, 92-102.
- Lintschinger J., Fuchs N., Moser J., Kuehnelt D., & Goessler W. (2000) Selenium-enriched sprouts. A raw material for fortified cereal-based diets. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 5362-5368.
- Liyanage R., Perera OS., Weththasinghe P., Jayawardana BC., Vidanaarachchi JK., Sivakanesan, R. (2014) Nutritional properties and antioxidant content of commonly consumed cowpea cultivars in Sri Lanka. *Journal of Food Legumes*, 27, 215-217.
- López R., Revilla A, Tórtora J. (2012) La deficiencia de selenio. *Ciencia y Desarrollo*. Disponible en: <http://www.cyd.conacyt.gob.mx/261/articulos/deficiencia-del-selenio.html>
- López-Martínez LX., Leyva-López N., Gutiérrez-Grijalva EP., & Heredia JB. (2017) Effect of cooking and germination on bioactive compounds in pulses and their health benefits. *Journal of Functional Foods*, 38, 624- 634.
- Luthria A., Singh K., D'souza M. (2014) In vitro antioxidant activity of black gram, cowpea, desi

chickpea and yellow mustard as affected by sprouting. *Journal of Global Biosciences* ISSN, 3, 385-389.

Lyons G., Ortiz-Monasterio I, Stangoulis J., Graham R. (2005a) Selenium concentration in wheat grain: Is there sufficient genotypic variation to use in breeding? *Plant and Soil*, 269, 369-380.

Lyons GH., Judson GJ., Ortiz-Monasterio I., Genc Y., Stangoulis JCR., Graham RD. (2005b) Selenium in Australia: Selenium status and biofortification of wheat for better health. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 19, 75-82.

Makkar HP., Blümmel M., Borowy NK., Becker K. (1993) Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 61, 161-165.

Malagoli M., Schiavon M., Dall'Acqua S., Pilon-Smits EAH. (2015) Effects of selenium biofortification on crop nutritional quality. *Frontiers in Plant Science*, 6, 280.

Marques MR., Fontanari GG., Pimenta DC., Soares-Freitas RM., Arêas JAG. (2015) Proteolytic hydrolysis of cowpea proteins is able to release peptides with hypocholesterolemic activity. *Food research international*, 77, 43-48.

Márquez-Quiroz C., De-la-Cruz-Lázaro E., Osorio-Osorio R., Sánchez-Chávez E. (2015) Biofortification of cowpea beans with iron: iron's influence on mineral content and yield. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 15, 839-847.

Mehta MB., Mehta B., Bapodra AH. and Joshi HD. (2007) Effect of sprouting and heat processing on protein, riboflavin, Vitamin C and niacin content in peas, cowpea, redgram and wheat. *Asian Journal Home Science*, 2, 34-38.

Morales-Morales AE., de la Cruz-Lázaro E., Osorio-Osorio R., Sánchez-Chávez E., Montemayor TA y Márquez-Quiroz C. (2016) Contenido mineral y rendimiento de germinados de frijol caupí biofortificados. *Revista Mexicana de Ciencias. Agrícolas*, 17, 3415-3425.

Mozafariyan M., Pessarakli M., Saghafi K. (2017) Effects of selenium on some morphological and physiological traits of tomato plants grown under hydroponic condition. *Journal of Plant Nutrition*, 40, 139-144.

Murphy KJ., Marques-Lopes I., Sánchez-Tainta A. (2018) Chapter 7 – Cereals and legumes. En: *The prevention of cardiovascular disease through the Mediterranean diet* (Eds. Sánchez-Villegas A, Sanchez-Taínta A), 111-132. Academic Press.

Narváez-Ortiz W., Becvort-Azcurra A., Fuentes-Lara L., Benavides-Mendoza A., Valenzuela-García J., & González-Fuentes J. (2018) Mineral Composition and Antioxidant Status of Tomato with Application of Selenium. *Agronomy*, 8, 185.

Nelso K., Stojanovska L., Vasiljevic T., Mathai M. (2013) Germinated grains: a superior whole grain functional food?. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 91, 429-441.

- Nothstein AK., Eiche E., Riemann M., Nick P., Winkel LHE., Göttlicher J., Steininger R., Brendel R., von Brasch M., Konrad G., Neumann T. (2016) Tracking se assimilation and speciation through the rice plant–nutrient competition, toxicity and distribution. *Plos One*, 11, e0152081.
- Oboh HA., Muzquiz M., Burbano C., Cuadrado C., Pedrosa MM., Ayet G. and Osagie AU. (2000) Effect of soaking, cooking and germination on the oligosaccharide content of selected Nigerian legume seeds. *Plant Food for Human Nutrition*, 55, 97–110.
- Ojwang LO., Yang L., Dykes L., Awika J. (2013) Proanthocyanidin profile of cowpea (*Vigna unguiculata*) reveals catechin-O-glucoside as the dominant compound. *Food chemistry*, 139, 35-43.
- Paikaray S. (2016) Origin, mobilization and distribution of selenium in a soil/water/air system: A global perspective with special reference to the Indian scenario. *CLEAN – Soil, Air, Water*, 44, 474-487.
- Pajak P., Socha R., Galkowska D., Roznowski J., Fortuna T. (2014) Phenolic profile and antioxidant activity in selected seeds and sprouts. *Food Chemistry*, 143, 300-306.
- Pal RS., Bhartiya A., Yadav P., Kant L., Mishra KK., Aditya JP. and Pattanayak A. (2017) Effect of dehulling, germination and cooking on nutrients, anti-nutrients, fatty acid composition and antioxidant properties in lentil (*Lens culinaris*). *Journal of Food Science and Technology*, 54, 909-920.
- Perrone D., Monteiro M., Nunes JC. (2015) Chapter the chemistry of selenium. En: *Selenium: Chemistry, analysis, function and effects* (Ed. Preedy VR). The Royal Society of Chemistry. 3-15.
- Petchiammal C., Hopper W. A. H. E. E. T. A. (2014) Antioxidant activity of proteins from fifteen varieties of legume seeds commonly consumed in India. *International Journal Pharmacy Pharm Sciences*, 6, 476-479.
- Pilon-Smits EA. (2015) Selenium in plants. In *Progress in botany*. Springer, Cham. 93-107
- Pilon-Smits EAH, LeDuc DL. (2009) Phytoremediation of selenium using transgenic plants. *Current Opinion in Biotechnology*, 20, 207-212.
- Ponce de León C., Torija ME. Matallana MC. (2013) Use in the alimentation of some germinated seeds. *Inf. Res. Manag. J. Bol. R. Soc. Esp. Hist. Nature Sec Biolgy*, 107, 47-55.
- Puccinelli M., Malorgio F., Pezzarossa B. (2017) Selenium enrichment of horticultural crops. *Molecules*, 22, 933.
- Ramos-Aguilar C. y Villanueva-Verduzco C. (1998) Producción de germinados de frijol mungo (*Vigna radiata*) y calabaza pipiana (*Cucurbita argyrosperma*). *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 2, 95-100.

- Rangel A., Saraiva K., Schwengber P., Narciso MS., Domont GB., Ferreira ST., Pedrosa C. (2004) Biological evaluation of a protein isolate from cowpea (*Vigna unguiculata*) seeds. *Food Chemistry*, 87, 491-499.
- Ranhotra GS., Loewe RJ., Lehman TA. (1977) Breadmaking quality and nutritive value of sprouted wheat. *Journal of Food Sciences Nutrition*, 42, 1373.
- Rayman MP. (2012) Selenium and human health. *The Lancet*, 379, 1256-1268.
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26, 1231-1237.
- Revanappa SB., Kamannavar PY., Vijaykumar AG., Ganajaxi M., Gajanan DK., Arunkumar B., Salimath PM (2012) Genotype x environment interaction and stability analysis for grain yield in blackgram (*Vigna mungo* L.). *Legume Research: An International Journal*, 35, 56-58.
- Rungruangmaitree R. y Jiraungkoorskul W. (2017) Pea, *Pisum sativum*, and its anticancer activity. *Pharmacognosy reviews*, 11, 39.
- Sae-Lee N., Kerdchoechuen O., Laohakunjit N. (2012) Chemical qualities and phenolic compounds of Assam tea after soil drench application of selenium and aluminium. *Plant Soil*, 356, 381e393.
- Salawu SO., Bester MJ., Duodu KG. (2014) Phenolic composition and bioactive properties of cell wall preparations and whole grains of selected cereals and legumes. *Journal of Food Biochemistry*, 38, 62-72.
- SAS Institute I. (2013). *SAS/STAT 9.2 User's Guide*. Second Edition. Cary, NC, USA. SAS Institute Inc. pp 7869.
- Schiavon M. y Pilon-Smits EAH (2017b) Selenium biofortification and phytoremediation phytotechnologies: A review. *Journal of Environmental Quality*, 46, 10-19.
- Schiavon M., Pilon M., Malagoli M., Pilon-Smits EAH. (2015) Exploring the importance of sulfate transporters and ATP sulphurylases for selenium hyperaccumulation—a comparison of *Stanleya pinnata* and *Brassica juncea* (brassicaceae). *Frontiers in Plant Science* 6.
- Schiavon M., Pilon-Smits EAH. (2017a) The fascinating facets of plant selenium accumulation biochemistry, physiology, evolution and ecology. *New Phytologist*, 213, 1582-1596.
- Sebetha ET., Modi AT., Owoeye LG. (2015) Cowpea crude protein as affected by cropping system, site and nitrogen fertilization. *Journal of Agricultural Science*, 7, 224.
- SIAP. (2017) Servicio de información Agrícola y Pecuaria. Anuario estadístico de la producción agrícola. http://infosiap.siap.gob.mx/aagricola_siap_gb/identidad/index.jsp
- Sinha R. y Kawatra A. (2003) Effect of processing on phytic acid and polyphenol contents of cowpeas [*Vigna unguiculata* (L) Walp]. *Plant Foods for Human Nutrition*, 58, 1-8.

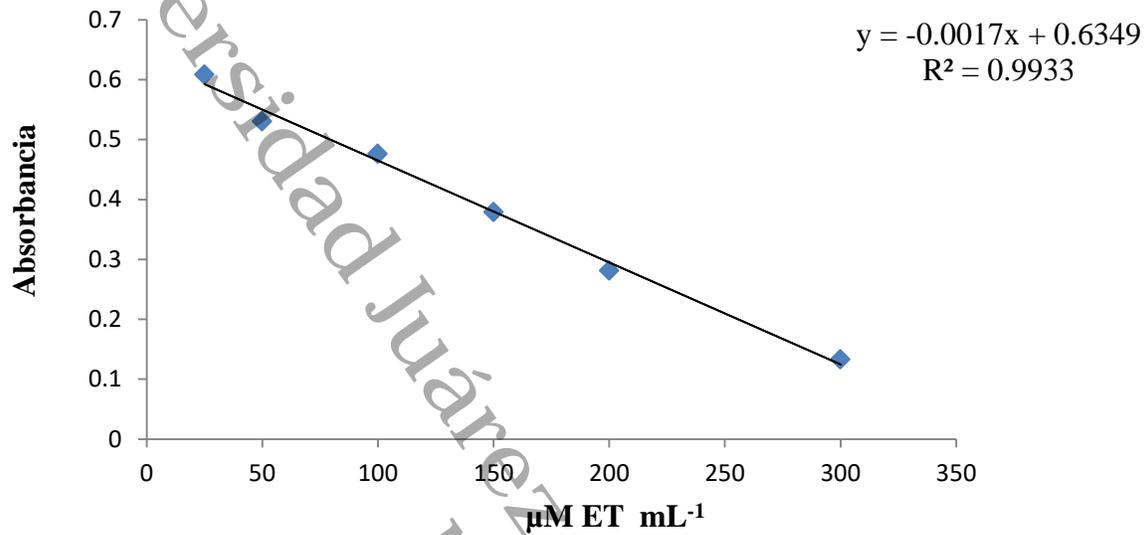
- Smykal P., Coyne CJ., Ambrose MJ., Maxted N., Schaefer H., Blair MW., Berger J., Greene SL., Nelson MN., Besharat N., Vymyslický T., Toker C., Saxena RK., Roorkiwal M., Pandey MK., Hu J., Li YH., Wang LX., Guo Y., Qiu LJ., Redden RJ., Varshney RK. (2015) Legume Crops Phylogeny and Genetic Diversity for Science and Breeding. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 34, 43-104.
- Sors TG., Ellis DR., Salt DE. (2005) Selenium uptake, translocation, assimilation and metabolic fate in plants. *Photosynthesis Research*, 86, 373-389.
- Spadoni M, Voltaggio M, Carcea M, Coni E, Raggi A, Cubadda F (2007). Bioaccessible selenium in Italian agricultural soils: Comparison of the biogeochemical approach with a regression model based on geochemical and pedoclimatic variables. *Science of the Total Environment*, 376, 160-177.
- Sreerama YN., Sashikala VB., Pratapa VM., Singh V. (2012) Nutrients and antinutrients in cowpea and horse gram flours in comparison to chickpea flour: Evaluation of their flour functionality. *Food Chemistry*, 131, 462-468.
- Sritongtae B., Sangsukiam T., Morgan MRA., Duangmal K. (2017) Effect of acid pretreatment and the germination period on the composition and antioxidant activity of rice vean (*Vigna umbellata*). *Food Chemistry*, 227, 280- 288.
- Sultana B., Anwar F., Ashraf M. (2009) Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules*, 14, 2167-2180.
- Świeca M., Gawlik-Dziki U., Kowalczyk D., Zlotek U. (2012) Impact of germination time and type of illumination on the antioxidant compounds and antioxidant capacity of *Lens culinaris* sprouts. *Sci. Hortic.* 140, 87-95.
- Tchiagam LBN., Bell JM., Nassourou AM., Njintang NY., Youmbi E. (2011) Genetic analysis of seed proteins contents in cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). *African Journal of Biotechnology*, 10, 3077-3086.
- Terry N., Zayed AM., de Souza MP., Tarun AS. (2000) Selenium in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 51, 401-432.
- Thavarajah D, Ruszkowski J, Vandenberg A (2008) High potential for selenium biofortification of lentils (*Lens culinaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 10747-10753.
- Thiruvengadam M. y Chung IM. (2015) Selenium, putrescine, and cadmium influence health-promoting phytochemicals and molecular-level effects on turnip (*Brassica rapa* ssp. *rapa*). *Food chemistry*, 173, 185-193.
- Tie M., Sun J., Gao Y., Yao Y., Wang T., Zhong H., Li, H. (2018) Identification and quantitation of seleno-amino acids in mung bean sprouts by high-performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry (HPLC–MS). *European Food Research and Technology*, 244, 491-500.
- Trejo-Téllez LI, Gómez-Merino FC, Alcántar-González G. (2012) Elementos benéficos. En: *Nutrición de cultivos* (Eds. Alcántar-González G y Trejo-Téllez LI), pp. 49-91. México.

Colegio de Post graduados.

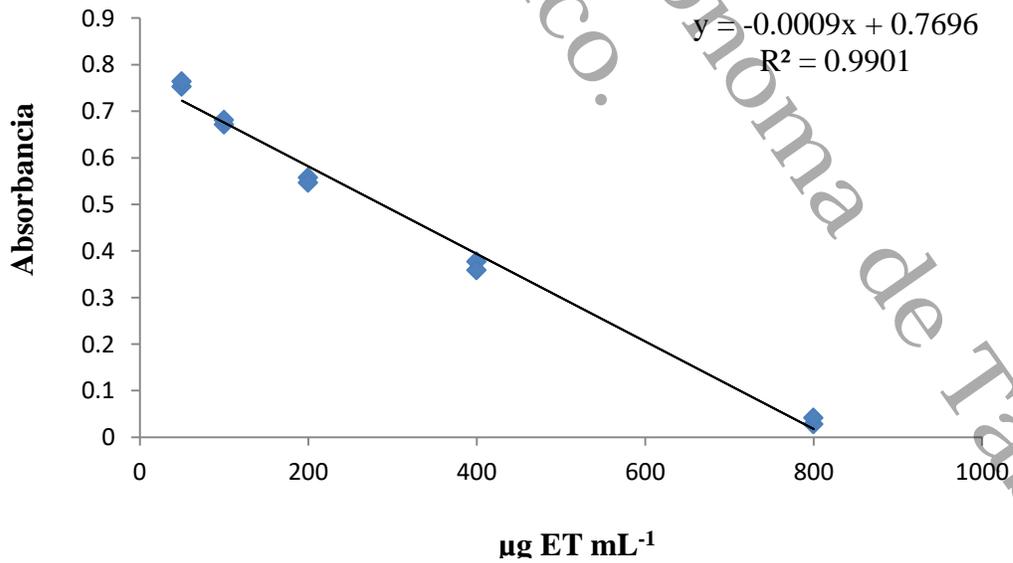
- Tyszka-Czochara M., Pasko P., Zagrodzki P., Gajdzik E., Wietecha-Posluszny R., Gorinstein S. (2016) Selenium supplementation of amaranth sprouts influences betacyanin content and improves anti-inflammatory properties via NF B in Murine RAW 264.7 macrophages. *Biological Trace Element Research*, 169, 320-330.
- Uppal V y Bains K. (2012) Effect of germination periods and hydrothermal treatments on in vitro protein and starch digestibility of germinated legumes. *Journal of food science and technology*, 49, 184-191.
- Van Hoewyk D., Takahashi H., Inoue E., Hess A., Tamaoki M., Pilon-Smits EAH. (2008) Transcriptome analyses give insights into selenium-stress responses and selenium tolerance mechanisms in Arabidopsis. *Physiologia Plantarum*, 132, 236-253.
- Vasconcelos IM., Maia FMM., Farias DF., Campello CC., Carvalho AFU., de Azevedo Moreira R., de Oliveira JTA. (2010) Protein fractions, amino acid composition and antinutritional constituents of high-yielding cowpea cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23, 54-60.
- Waters BM. y Sankaran RP. (2011) Moving micronutrients from the soil to the seeds: Genes and physiological processes from a biofortification perspective. *Plant Science*, 180, 562-574.
- Watson A., Ghosh S., Williams MJ., Cuddy WS., Simmonds J., Rey M-D., Asyraf Md Hatta M., Hinchliffe A., Steed A., Reynolds D., Adamski NM., Breakspear A., Korolev A., Rayner T., Dixon LE., Riaz A., Martin W., Ryan M., Edwards D., Batley J., Raman H., Carter J., Rogers C., Domoney C., Moore G., Harwood W., Nicholson P., Dieters MJ., DeLacy IH., Zhou J., Uauy C., Boden SA., Park RF., Wulff BBH., Hickey LT. (2018) Speed breeding is a powerful tool to accelerate crop research and breeding. *Nature Plants*, 4, 23-29.
- White PJ. (2016) Selenium accumulation by plants. *Annals of Botany*, 117, 217-235.
- Xiong S., Yao X., Li A. (2013) Antioxidant properties of peptide from cowpea seed. *International journal of food properties*, 16, 1245-1256.
- Xu B y Chang SK. (2012) Comparative study on antiproliferation properties and cellular antioxidant activities of commonly consumed food legumes against nine human cancer cell lines. *Food Chemistry*, 134, 1287-1296.
- Zepeda AG., y Quiroz CM. (2018) Aplicación de selenio en cultivos agrícolas. Revisión bibliográfica. *ITEA, información técnica económica agraria: revista de la Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario (AIDA)*, 114, 327-343.
- Zhang L., Li Q., Yang X., Xia Z. (2012) Effects of sodium selenite and germination on the sprouting of chickpeas (*Cicer arietinum* L.) and its content of selenium, formononetin and biochanin A in the sprouts. *Biological trace element research*, 146, 376-380.
- Zhao FJ., Su YH., Dunham SJ, Rakszegi M., Bedo Z., McGrath SP., Shewry PR. (2009) Variation in mineral micronutrient concentrations in grain of wheat lines of diverse origin. *Journal of Cereal Science*, 49, 290-295.

- Zhao J., Ge LY., Xiong W., Leong F., Huang LQ., Li SP. (2016) Advanced development in phytochemicals analysis of medicine and food dual purposes plants used in China (2011-2014). *Journal of chromatography A*, 1428, 39-54.
- Zhu L., Wang P., Zhang W., Hui F., Chen X. (2017) Effects of selenium application on nutrient uptake and nutritional quality of *Codonopsis lanceolata*. *Scientia Horticulturae*, 225, 574-580.
- Zia-Ul-Haq M., Ahmad S., Amarowicz R., De Feo V. (2013) Antioxidant activity of the extracts of some cowpea (*Vigna unguiculata* (L) Walp.) cultivars commonly consumed in Pakistan. *Molecules*, 18, 2005-2017.
- Zielinska D., Frias J., Piskula MK., Kozłowska H., Zielinski H., Vidal-Valverde C. (2008) Evaluation of the antioxidant capacity of lupin sprouts germinated in the presence of selenium. *European Food Research and Technology*, 227, 1711.
- Zou T., Xu N., Hu G., Pang J., Xu H. (2014) Biofortification of soybean sprouts with zinc and bioaccessibility of zinc in the sprouts. *UK. Journal of the Science of Food and Agriculture* 94.

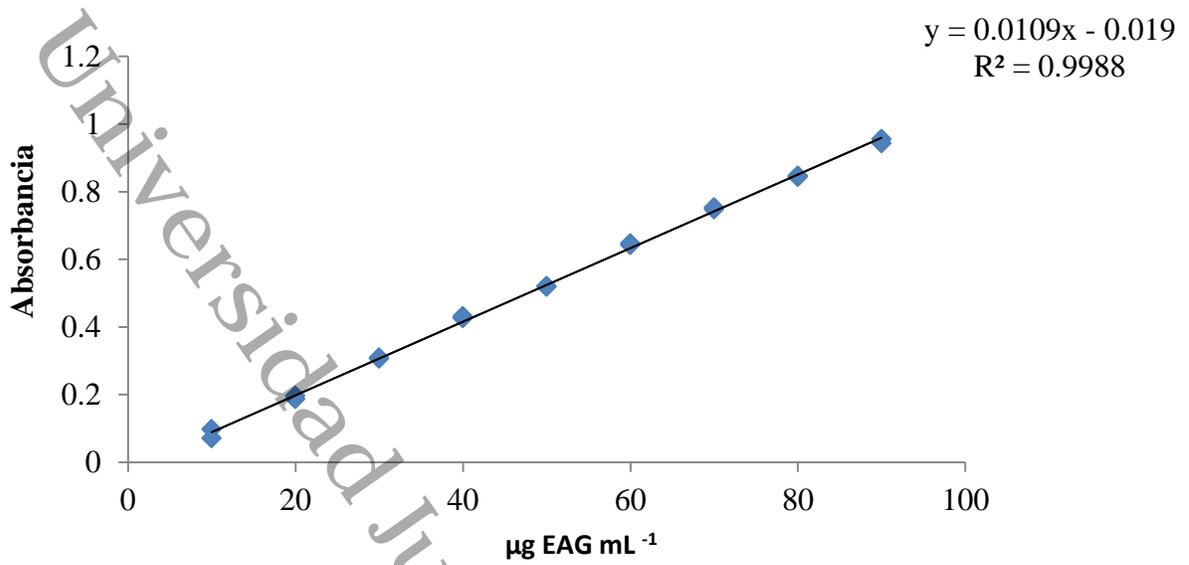
IX. ANEXOS



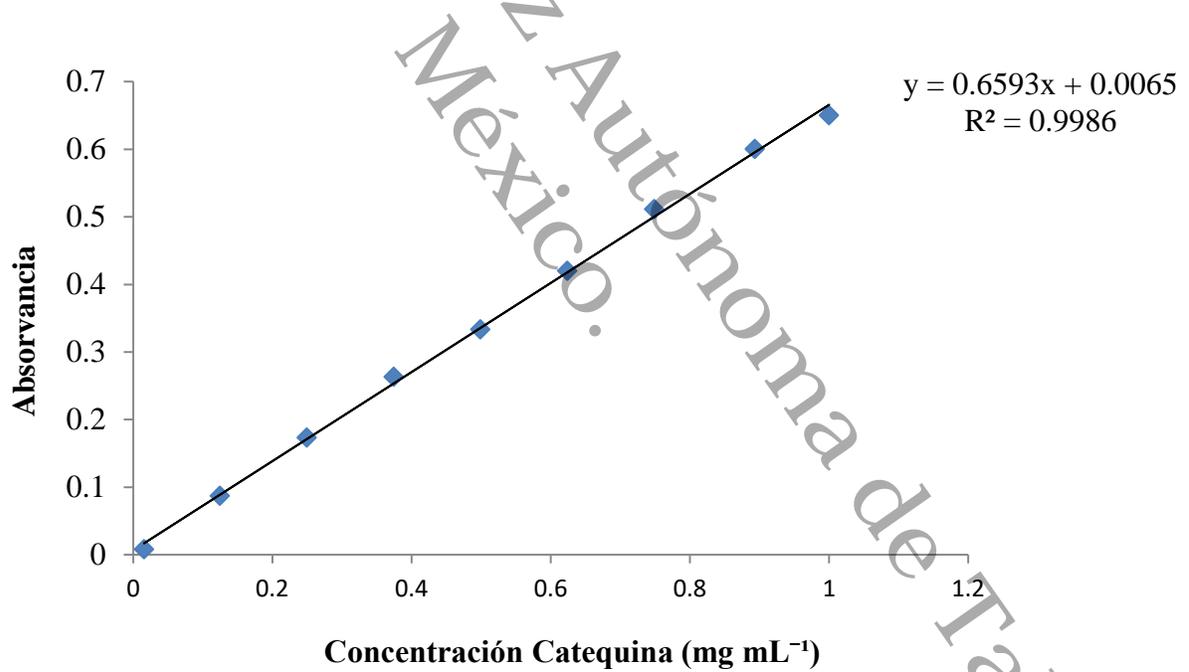
Anexo 1.- Curva de calibración de Trolox para cuantificación de capacidad antioxidante por DPPH.



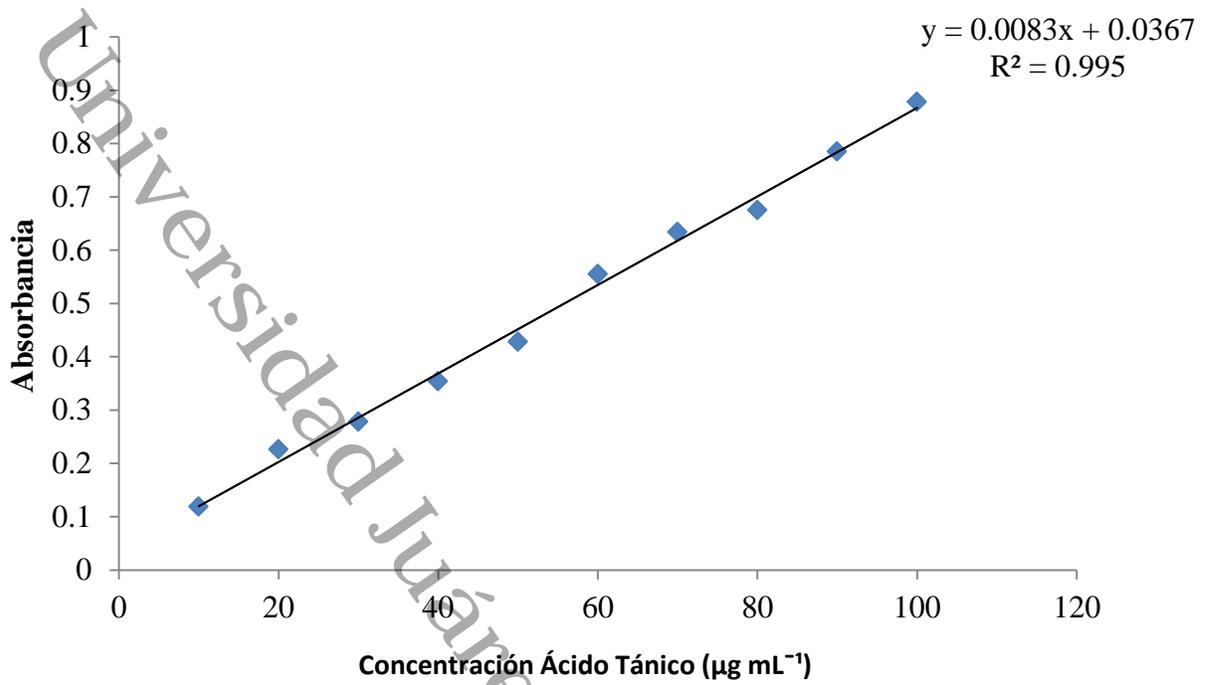
Anexo 2.- Curva de calibración de Trolox para cuantificación de capacidad antioxidante por ABTS.



Anexo 3.- Curva de calibración de fenoles totales con ácido gálico.



Anexo 4.- Curva de calibración catequina para flavonoides.



Anexo 5.- Curva de calibración de ácido tánico para taninos.