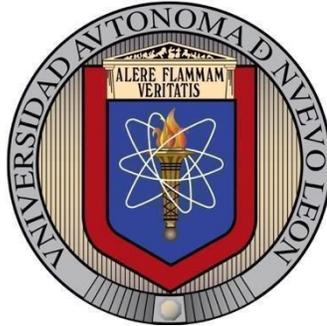


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE SALUD PÚBLICA Y NUTRICIÓN**



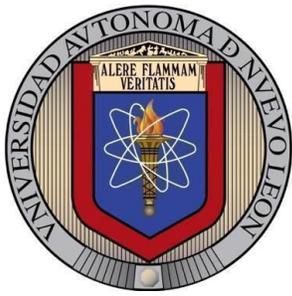
**COMPUESTOS FENÓLICOS EN GERMINADOS DE HABA  
(*Vicia faba L.*) Y SU EFECTO ANTIADIPOGÉNICO *IN SILICO***

**POR**

**L.N. CARLOS ENRIQUE LIÑAN TUCKAR**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO  
DE MAestrÍA EN CIENCIAS EN NUTRICIÓN**

**JULIO, 2021**



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**  
**FACULTAD DE SALUD PÚBLICA Y NUTRICIÓN**  
**SUBDIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN, INNOVACIÓN POSGRADO**



**COMPUESTOS FENÓLICOS EN GERMINADOS DE HABA**  
**(*Vicia faba* L.) Y SU EFECTO ANTIADIPOGÉNICO *IN SILICO***

**POR**  
**L.N. CARLOS ENRIQUE LIÑAN TUCKAR**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE**  
**MAESTRÍA EN CIENCIAS EN NUTRICIÓN**

**DIRECTOR DE TESIS**  
**DR. EN C. JESÚS ALBERTO VÁZQUEZ RODRÍGUEZ**

**CO-DIRECTOR DE TESIS**  
**DR. MANUEL LÓPEZ-CABANILLAS LOMELÍ**

**MONTERREY, NUEVO LEÓN, MÉXICO**

**JULIO 2021**

## **APROBACIÓN DE TESIS DE MAESTRÍA**

### **COMPUESTOS FENÓLICOS EN GERMINADOS DE HABA (*Vicia faba L.*) Y SU EFECTO ANTIADIPOGÉNICO *IN SILICO***

#### **Comité de Tesis**

---

**Dr. Jesús Alberto Vázquez Rodríguez**  
Presidente

---

**Dr. Manuel López-Cabanillas Lomelí**  
Secretario

---

**Dra. Blanca Edelia González Martínez**  
Vocal

---

**Dra. Blanca Edelia González Martínez**  
Subdirectora de Investigación, Innovación y Posgrado

## COMITÉ DE EVALUACIÓN DE TESIS

El comité de Evaluación de Tesis **APROBÓ** la tesis titulada: “**COMPUESTOS FENÓLICOS EN GERMINADOS DE HABA (*Vicia faba L.*) Y SU EFECTO ANTIADIPOGÉNICO *IN SILICO***” presentado por el L.N. Carlos Enrique Liñan Tuckar con la finalidad de obtener el grado de Maestría en Ciencias en Nutrición.

Monterrey, Nuevo León a 15 de junio de 2021

---

**Dr. Manuel López-Cabanillas Lomelí**  
Presidente

---

**Dr. Jesús Alberto Vázquez Rodríguez**  
Secretario

---

**Dra. Blanca Edelia González Martínez**  
Vocal



**UANL**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



**FaSPyN**

Facultad de Salud Pública y Nutrición

**Dra. en C. Blanca Edelia González Martínez**  
**Subdirección de Investigación, Innovación y Posgrado**  
**Facultad de Salud Pública y Nutrición**  
**Universidad Autónoma de Nuevo León**

**P R E S E N T E**

Por este conducto le comunicamos que hemos concluido la dirección y codirección de la tesis titulada: “**COMPUESTOS FENÓLICOS EN GERMINADOS DE HABA (*Vicia faba L.*) Y SU EFECTO ANTIADIPOGÉNICO *IN SILICO***”, presentado por el L.N. Carlos Enrique Liñan Tuckar con la finalidad de obtener el grado de Maestría en Ciencias en Nutrición.

Sin otro particular, le enviamos un cordial saludo.

Atentamente

*“Alere Flamma Veritatis”*

Monterrey, Nuevo León a 22 de junio de 2021

---

Dr. Jesús Alberto Vázquez Rodríguez

**Director**

---

Dr. Manuel López-Cabanillas Lomelí

**Co-Director**

## **DEDICATORIA**

Dedico este trabajo a Dios, al Sr. Carlos Enrique Liñan Torres y la Sra. Claudia Esther Tuckar Vázquez; mis padres, a Ana Karen Liñan y Ricardo Liñan; mis hermanos, a Josefina Vázquez y Enrique Liñan; mis abuelos. A toda mi familia. Gracias.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo económico durante el programa de posgrado.

A la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL) y a la Facultad de Salud Pública y Nutrición (FaSPyN) que permitieron el desarrollo de este trabajo.

Al Dr. Jesús Alberto Vázquez Rodríguez, por su guía y apoyo para la realización de este trabajo, gracias por sus consejos y disponibilidad siempre.

Al Dr. Manuel López-Cabanillas Lomelí, por su guía en la realización de este trabajo, así como por el apoyo brindado durante el programa de posgrado.

Al Dr. David Arturo Silva Mares, por su apoyo y aporte de nuevos conocimientos durante el programa de posgrado.

A todos los Doctores, Maestros y personal administrativo que forman parte de la FaSPyN, de los cuales siempre recibí un trato amable y apoyo durante el programa de posgrado.

A mis compañeros y amigos de generación por el apoyo y amistad que me brindaron.

A mis padres Carlos Liñan y Claudia Tuckar, por siempre apoyarme en mis proyectos y ser una guía en mi vida.

A mis hermanos Ana Karen Liñan, Ricardo Liñan y Gio Gaona, a mis abuelos Josefina Vázquez y Enrique Liñan. A toda mi familia por el apoyo brindado.

Muchas gracias a todos.

## ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	3
I. INTRODUCCIÓN	5
II. ANTECEDENTES	7
2.1 Leguminosas	7
2.2 Germinado de leguminosas	8
2.3 Haba ( <i>Vicia faba</i> L.)	12
2.4 Composición nutricional del haba ( <i>Vicia faba</i> L.)	13
2.5 Generalidades de los compuestos fenólicos	15
2.6 Contenido de compuestos fenólicos en haba ( <i>Vicia faba</i> L.)	18
2.7. Estudios realizados con compuestos fenólicos presentes en haba ( <i>Vicia faba</i> L.)	20
2.8 Sobrepeso y obesidad	21
2.9 Proceso fisiológico de la obesidad	22
2.10 Obesidad y PPAR $\gamma$	23
2.11 Modelo <i>in silico</i> para evaluar la interacción de compuestos fenólicos y sus metabolitos con el receptor PPAR $\gamma$	24
III. JUSTIFICACIÓN	27
IV. HIPÓTESIS	28
V. OBJETIVOS	28
5.1 Objetivo General	28
5.2 Objetivos específicos	28
VI. METODOLOGÍA	29
6.1 Diseño del estudio	29
6.2 Estrategia general del desarrollo del estudio	29
6.3 Materiales y reactivos empleados para la realización del estudio.	30
6.4 Método para la germinación de semillas de haba ( <i>Vicia faba</i> L.)	31
6.5 Método para la obtención de extractos de germinados haba ( <i>Vicia faba</i> L.)	31
6.6 Método para determinación de compuestos fenólicos totales	31
6.7 Método para la determinación de la capacidad antioxidante	32
6.8 Método <i>in silico</i> para la determinación de la actividad sobre adipogénesis	32
6.9 Plan de análisis	34
6.10 Ética	34
6.11 Implicaciones y medidas de bioseguridad	34

VII. RESULTADOS	35
7.1 Rendimiento de extractos de germinados de haba ( <i>Vicia faba</i> L.)	35
7.2 Polifenoles totales de extractos de germinados de haba ( <i>Vicia faba</i> L.)	35
7.3 Actividad antioxidante de extractos de germinados de haba ( <i>Vicia faba</i> L.)	36
7.4 Método <i>In silico</i> para la determinación de la actividad sobre adipogénesis	37
VIII. DISCUSIÓN	48
8.1 Rendimiento de extractos de germinados de haba ( <i>Vicia faba</i> L.)	48
8.2 Polifenoles totales de extractos de germinados de haba ( <i>Vicia faba</i> L.)	49
8.3 Actividad antioxidante (DPPH) de extractos de germinados de haba ( <i>Vicia faba</i> L.)	51
8.4 Método <i>in silico</i> para la determinación de la actividad sobre adipogénesis	52
IX. CONCLUSIÓN	57
X. BIBLIOGRAFÍA	58

## LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
1	Composición nutrimental de leguminosas de acuerdo con la National Nutrient Database of USDA 2018.	8
2	Cambios en el perfil de compuestos fenólicos por proceso de germinación en leguminosas.	11
3	Composición nutricional del haba ( <i>Vicia faba</i> L.) cruda y cocida de acuerdo con la National Nutrient Database of USDA 2018.	14
4	Tabla de clasificación de compuestos fenólicos (Martínez, 2010).	16
5	Materiales y reactivos empleados para la realización del estudio.	30
6	Rendimientos de extractos de germinados de haba ( <i>Vicia faba</i> L.).	35
7	Polifenoles totales de extractos de germinados de haba ( <i>Vicia faba</i> L.).	36
8	Actividad antioxidante de extractos de germinados de haba ( <i>Vicia faba</i> L.).	36
9	Valores de energía libre para las interacciones ligando-proteína predichas por DockingServer (compuestos fenólicos).	37
10	Valores de energía libre para las interacciones ligando-proteína predichas por DockingServer (Metabolitos de Quercetina).	38
11	Valores de energía libre para las interacciones ligando-proteína predichas por DockingServer (Metabolitos de Miricetina).	39
12	Valores de energía libre para las interacciones ligando-proteína predichas por DockingServer (Metabolitos de Catequina).	40
13	Valores de energía libre para las interacciones ligando-proteína predichas por DockingServer (Metabolitos de Epicatequina).	41
14	Valores de energía libre para las interacciones ligando-proteína predichas por DockingServer (Metabolitos de Ácido cafeico).	42
15	Valores de energía libre para las interacciones ligando-proteína predichas por DockingServer (Metabolitos de Luteolina).	43

16	Valores de energía libre para las interacciones ligando-proteína predichas por DockingServer (Metabolitos de Apigenina).	44
17	Valores de energía libre para las interacciones ligando-proteína predichas por DockingServer (Metabolitos de Kaempferol).	45
18	Valores de energía libre para las interacciones ligando-proteína predichas por DockingServer (Metabolitos de Resveratrol).	46
19	Valores de energía libre para las interacciones ligando-proteína predichas por DockingServer (Metabolitos de Ácido gálico).	47

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
1	Proceso de germinación de haba ( <i>Vicia faba</i> L.) (Nkhata et al., 2018).	10
2	Planta de Haba ( <i>Vicia faba</i> L.) (Thomé, 1885).	13
3	Estructura química del fenol	15
4	Glicósido de quercetina Quercetin-3-O-glucurónido	17
5	Sobrepeso y obesidad en adultos a nivel mundial en 2016 según la OMS (OMS, 2020) y en México en 2018 según ENSANUT (ENSANUT, 2020).	21
6	DockingServer AutoDock.	25
7	Avogadro software.	26
8	Diagrama de flujo de la estrategia general del desarrollo del estudio.	29
9	Unión de estructura 3D de Apigenina con PPAR $\gamma$ .	38
10	Unión de estructura 3D de Quercetin-4-O-glucurónido con PPAR $\gamma$ .	39
11	Unión de estructura 3D de Miricetin 3-rutinósido con PPAR $\gamma$ .	40
12	Unión de estructura 3D de Catequin 4'-O-galato con PPAR $\gamma$ .	41
13	Unión de estructura 3D de (-)-Epicatequin-5-galato con PPAR $\gamma$ .	42
14	Unión de estructura 3D de Ácido cafeico 4-O-glucurónido con PPAR $\gamma$ .	43
15	Unión de estructura 3D de Luteolin 7-glucurónido con PPAR $\gamma$ .	44
16	Unión de estructura 3D de Apigenin 4'-sulfato 7-glucurónido con PPAR $\gamma$ .	45
17	Unión de estructura 3D de Kaempferol 7-galactósido con PPAR $\gamma$ .	46
18	Unión de estructura 3D de Cis-resveratrol 3-O-glucurónido con PPAR $\gamma$ .	47
19	Unión de estructura 3D de Ácido gálico3-galoil con PPAR $\gamma$ .	48

## LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

ANOVA	Análisis de varianza.
cm	Centímetros.
DPPH	Método del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo.
ENSANUT	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición.
FAO	Food and Agriculture Organization.
FeCl <sub>3</sub>	Tricloruro de hierro.
g	Gramos.
HCl	Ácido clorhídrico.
H <sub>2</sub> O	Agua.
Kcal	Kilocalorías.
L	Litro.
LDL	Lípidos de baja densidad.
M	Concentración molar.
min	Minutos.
mm	Milímetros.
mM	Concentración milimolar.
mg	Miligramos.
mg/L	Concentración expresada en miligramos por litro.
mL	Mililitros.
NaCO <sub>3</sub>	Carbonato de sodio.
NaNO <sub>2</sub>	Nitrito de sodio.
nm	Nanómetros.
OMS	Organización Mundial de la Salud.
pH	Grado de acidez/alcalinidad de una disolución dada por la concentración de iones de hidrógeno.
rpm	Revoluciones por minuto.
SDS	Dodecilsulfato sódico.
Trolox	Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico.
USDA	United States Department of Agriculture.
µg	Microgramo.
µL	Microlitro.
µM	Concentración micromolar.
µm	Micrómetro.
µg/mL	Concentración expresada en microgramos por mililitro.
µmolTE/g	Micromoles de equivalentes Trolox por gramo.
°C	Grados Celsius. Unidad de temperatura.

## RESUMEN

La obesidad es la acumulación anormal excesiva de tejido adiposo. Está asociada a diversas patologías que afectan la salud, teniendo datos epidémicos a nivel nacional y mundial. El estudiar los mecanismos adipogénicos con diversas herramientas tecnológicas, que ayuden a comprender el efecto de los alimentos y sus compuestos funcionales sobre el tejido adiposo, es importante para contribuir a atacar esta epidemia. En los últimos años, se ha reportado efecto anti-adipogénico de diversas especies vegetales como las leguminosas, principalmente cuando son germinadas; debido a que suelen incrementar el contenido y actividad de los compuestos fenólicos presentes en las mismas. El haba (*Vicia faba* L.) es una leguminosa ampliamente cultivada, conocida por el potencial de rendimiento y contenido nutrimental. Las semillas de haba (*Vicia faba* L.) son ricas en proteínas, carbohidratos, fibra, vitaminas y minerales y compuestos fenólicos. Su contenido de compuestos fenólicos varía entre 817.02 y 1,337.82 mgE ácido gálico/L, según la variedad. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto antiadipogénico *in silico* de compuestos fenólicos presentes en extractos de germinados de haba, y sus metabolitos de digestión. Se llevó a cabo un proceso de germinación de 6 días del haba, posterior a ello se analizaron los germinados de haba de los días 0 (semilla sin germinar), 2, 4 y 6. El día 6 fue el que presentó mayor cantidad de compuestos fenólicos totales ( $1,697 \pm 17.69$  mgEAG/L de solución) pero el que presentó mayor actividad antioxidante fue el del día 4 ( $705.75 \pm 24.64$   $\mu$ ME Trolox). Para la metodología *in silico*, se realizó una búsqueda en bases de datos (Phenol-Explorer, PhytoHub y FOODB), obteniendo los 10 principales polifenoles presentes en haba: ácido cafeico, ácido gálico, miricetina, quercetina, apigenina, kaempferol, catequina, epicatequina y resveratrol, y los metabolitos reportados de estos en las bases de datos. Los valores de energía de activación a PPAR $\gamma$  más representativos se encontraron en los glicósidos de miricetina (Miricetin 3-rutinósido = -9.7 Kcal/mol) y catequina (Catequin 4'-O-galato = -9.8 Kcal/mol), epicatequina ((-)-Epicatequin-5-galato = -9.0 Kcal/mol), apigenina (Apigenin 7-galactósido = -9.1 Kcal/mol), kaempferol (Kaempferol 7-galactósido = -9.0 Kcal/mol), todos estos presentando

valores de -9.0 Kcal/mol, siendo mayores a los presentados por los compuestos fenólicos. Sin embargo, los resultados sugieren que tanto los compuestos fenólicos como sus glicósidos pueden ser potentes agentes antiadipogénicos al presentar una afinidad de unión  $\leq -5$  Kcal/mol con el receptor PPAR $\gamma$ . Por lo tanto, el llevar a cabo un proceso de germinación de haba en las condiciones del estudio, incrementa significativamente el contenido de compuestos fenólicos totales presentes, sin mostrar diferencia significativa en su actividad antioxidante. Del estudio *in silico*, los polifenoles putativamente presentes en germinados de haba muestran una afinidad de unión  $\leq -5$  Kcal/mol con el receptor PPAR $\gamma$ , siendo más fuerte la afinidad de los metabolitos de digestión que los mismos compuestos fenólicos, generando inhibición del receptor PPAR $\gamma$ , cumpliendo con el objetivo del estudio. Sin embargo, escalar su estudio a nivel *in vitro* o *in vivo* sería crucial para la comprobación de este efecto.

## ABSTRACT

Obesity is the abnormal accumulation of excess fatty tissue. It is associated with various pathologies that affect health, having epidemic data at the national and global levels. The study of adipogenic mechanisms with various technological tools, which help to understand the effect of food and its functional compounds on adipose tissue, is important to help tackle this epidemic. In recent years, it has been reported anti-adipogenic effects of various plant species such as legumes, mainly when they are germinated; because they usually increase the content and activity of phenolic compounds present in them. Fava bean (*Vicia faba* L.) is a widely cultivated legume, known for its yield potential and nutrient content. Fava bean are rich in proteins, carbohydrates, fiber, vitamins and minerals and phenolic compounds. Its phenolic compounds content is between 817.02 and 1,337.82 mgE gallic acid/L, according to variety. The aim of this study was to evaluate the antiadipogenic effect *in silico* of phenolic compounds present in extracts of fava bean sprouts, and their digestive metabolites. It began by carrying out a 6-day germination process of the fava bean, after which the fava bean sprouts were analyzed of days 0 (not germinated), 2, 4 and 6 were analyzed. Day 6 was the one with the highest total polyphenols content (1,697 17.69 mgEAG/L of solution) but the one with the highest antioxidant activity was day 4 (705.75 24.64  $\mu$ ME Trolox). For the *in-silico* methodology, a search was carried out in databases (Phenol-Explorer, PhytoHub and FOODB), obtaining the 10 main polyphenols present in bean: caffeic acid, gallic acid, myricetin, quercetin, apigenin, kaempferol, catechin, epicatechin and resveratrol, and the metabolites reported from these in the databases. The most representative PPAR $\gamma$  activation energy values were found in the glycosides of myricetin (Myricetin 3-rutinoside = -9.7 Kcal/mol) and catechin (Catequin 4'-O-gallate = -9.8 Kcal/mol), epicatechin ((-)-Epicatechin-5-gallate = -9.0 Kcal/mol), apigenin (Apigenin 7-galactoside = -9.1 Kcal/mol), kaempferol (Kaempferol 7-galactoside = -9.0 Kcal/mol), all of these having values of -9.0Kcal/mol, being higher than phenolic compounds. However, the results suggest that both phenolic compounds and their glycosides can be potent antiadipogenic agents by presenting a binding affinity  $\leq$  -5 Kcal / mol with the PPAR $\gamma$  receptor. Furthermore, that carrying out a process of fava bean germination under

the conditions of the study significantly increases the content of total phenolic compounds but not a significant difference in their antioxidant activity. From the *in-silico* study, it can be concluded that the polyphenols putatively present in fava bean sprouts show a considerable bond affinity with the PPAR $\gamma$  receptor, and the affinity of the digestion metabolites being stronger than the phenolic compounds themselves, generating an inhibition of the PPAR $\gamma$  receptor, fulfilling the aim of the study. Therefore, scaling your study to *in vitro* or *in vivo* study would be crucial for the verification of this effect.

## I. INTRODUCCIÓN

Se define como obesidad a la acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud, representando un problema de salud a nivel mundial. Presentar sobrepeso u obesidad aumenta el riesgo a presentar otras patologías como dislipidemias, diabetes mellitus, enfermedades cardiovasculares y algunos tipos de cáncer (Ávila et al., 2016).

Por lo tanto, estudiar los mecanismos que generan sobrepeso y obesidad y cómo pueden ser regulados por diversos compuestos presentes en los alimentos, es importante para generar información y contribuir a atacar esta epidemia. En los últimos años, se ha reportado el efecto contra la adipogénesis de diversas especies vegetales como las leguminosas, principalmente cuando son germinadas; debido a que pueden incrementar el contenido y actividad de los compuestos fenólicos presentes en la misma. Estudios donde se ha empleado un proceso de germinación en leguminosas han presentado un incremento de hasta un 200% de compuestos fenólicos (Yue Gao, 2015) (Guzmán-Ortiz et al., 2017). Por ello la importancia de conocer cómo actúan dichos compuestos fenólicos atenuando y/o modificando dichos mecanismos de adipogénesis (Li et al., 2017).

Gracias al desarrollo de diversos modelos *in silico*, *in vitro*, *in vivo* y clínicos se ha generado una mejor comprensión de la adipogénesis asociada con la obesidad (Ruiz-Ojeda, Rupérez, Gómez-Llorente, Gil, & Aguilera, 2016). En los estudios en modelos *in silico* se pueden realizar predicciones rápidas mediante un análisis de acoplamiento molecular, en donde se puede determinar la actividad inhibitoria del compuesto fenólico mediante su capacidad para modular la actividad de distintos receptores como PPAR $\gamma$ , C/EBP y SREBP; los cuales están involucrados en la regulación del proceso de diferenciación de preadipocitos en adipocitos maduros.

Sin embargo, no existen estudios *in silico* en donde se evalúe el efecto modulador de los compuestos fenólicos presentes en haba (*Vicia faba* L.) sobre receptores involucrados en la regulación de la adipogénesis. Hasta el momento, los reportes científicos se han enfocado en leguminosas como soya y frijol, por lo que se resalta la importancia de estudiar otras leguminosas de relevancia comercial. El objetivo

del trabajo es evaluar el efecto antiadipogénico *In silico* de compuestos fenólicos, y sus glicósidos, presentes en de germinados de haba (*Vicia faba L.*).

## II. ANTECEDENTES

### 2.1 Leguminosas

La FAO considera leguminosas a las semillas comestibles secas y con bajo contenido en grasa. Entre las leguminosas con mayor consumo a nivel mundial se encuentra el frijol (*Phaseolus vulgaris*), las habas (*Vicia faba L.*), los garbanzos (*Cicer arietinum L.*), los chícharos (*Pisum sativum L.*), el frijol mungo (*Vigna radiata L.*), la soya (*Glycine max*) y diversas variedades de lentejas (*Lens culinaris Medik.*) (FAO, 2016).

El año 2016 se declaró el año internacional de las leguminosas, esto por parte de la Asamblea General de las Naciones Unidas en su 68° sesión. Esta declaración se realizó debido al papel que desempeñan las leguminosas en el abordaje a la seguridad alimentaria, en los cambios del medio ambiente y en la contribución al consumo de dietas saludables en la población mundial (Calles, 2016).

Las leguminosas se vinculan con una agricultura sostenible debido a que biológicamente generan la fijación de nitrógeno y fósforo libre unido al suelo, presentan la capacidad de adaptación al cambio climático, su consumo puede prevenir y ayudar a controlar enfermedades como obesidad, diabetes, enfermedades coronarias, entre otras. En cuanto a su importancia nutricia son fuente de proteína, vitaminas y minerales de origen vegetal, además, de que son económicamente accesibles para toda la población (Calles, 2016).

Las leguminosas se consideran un factor clave en la dieta debido a las propiedades nutrimentales que contienen. De acuerdo con evidencia científica, tienen un alto contenido de proteína y grandes cantidades de fibra alimentaria soluble, ácidos grasos poliinsaturados, vitaminas y minerales, y en especial sustancias bioactivas con capacidad antioxidante, antiinflamatoria y anticancerígena como lo son los compuestos fenólicos (Gętek et al., 2014).

Las leguminosas generan un considerable aporte de proteína: el frijol (*Phaseolus vulgaris*) hasta un 20% y en chícharo (*Pisum sativum L.*), soya (*Glycine max*) y haba (*Vicia faba L.*) hasta 38-40%. Se sabe que las leguminosas contienen una adecuada cantidad de fibra alimentaria soluble, entre 4 a 6%, variable contenido de ácidos

grasos poliinsaturados (18% en soya), vitaminas del grupo B y minerales como fósforo, potasio, calcio, magnesio, hierro, zinc y cobre. Tabla 1. Además, presentan un índice de glucemia bajo (<50) (Gętek et al., 2014).

**Tabla 1. Composición nutrimental de leguminosas de mayor consumo de acuerdo con la National Nutrient Database of USDA.**

Composición nutrimental de leguminosas de frecuente consumo					
Valor nutrimental en 100 g	Haba	Frijol	Soya	Garbanzo	Lenteja
Energía (Kcal)	341	337	469	378	352
Proteína (g)	26.12	22.53	38.55	20.47	24.63
Lípidos totales (g)	1.53	1.06	25.40	6.04	1.06
Carbohidratos (g)	58.29	61.29	30.22	62.95	63.35
Fibra (g)	25.00	15.20	17.70	12.20	10.70
Calcio (mg)	103	83	138	57	35
Potasio (mg)	1062	1359	1470	718	677
Vitamina C (mg)	1.40	4.50	2.20	4.00	4.50

(USDA, 2018).

Se distinguen por la alta cantidad de compuestos bioactivos que pueden interferir en la disminución de tejido adiposo y en el metabolismo de la glucosa, según estudios *in vitro*. Las leguminosas son una excelente opción de una alimentación saludable, considerándose alimentos funcionales por los nutrimentos y compuestos bioactivos que aporta (Gętek et al., 2014).

## 2.2 Germinado de leguminosas

La germinación es un proceso en el cual se humedecen las legumbres para desarrollar a la semilla. Ocurre al inicio del desarrollo de las semillas en las plantas, durante el cual la semilla es activada metabólicamente, generando el ápice y la radícula. Este proceso implica cambios en las características nutricionales,

bioquímicas y sensoriales de las semillas. Estos cambios se asocian a la activación de algunas enzimas endógenas que hacen que los alimentos germinados presenten mayor calidad nutricional en comparación con las semillas no germinadas (Nkhata, S. G., Ayua, E., Kamau, E. H., & Shingiro, J.-B, 2018). Esto se debe a que dichas enzimas reducen o eliminan los factores antinutricionales e indigeribles que están presentes en las legumbres (Saleh et al., 2019, Ohanenye et al., 2020).

El proceso de germinación es muy utilizado en leguminosas, al ser una técnica eficaz para mejorar la digestibilidad y calidad nutricional de estos alimentos en un corto periodo de tiempo, además, de ser una técnica económica. Dentro de los cambios nutricionales, se han identificado cambios en el contenido de macro y micronutrientes, así como en el contenido de componentes bioactivos, que tienen lugar durante el proceso de germinación. Esta es una de las razones por las cuales el consumo de germinados de leguminosas se ha incrementado como parte de una dieta saludable, segura y económica (Kaprielou et al., 2020).

Además de que el proceso de germinación genera un aumento en el contenido de proteínas y algunas vitaminas y minerales, y disminuye el contenido de grasas, se ha observado una mejora en la capacidad antioxidante, la cual puede atribuirse al aumento del contenido de compuestos fenólicos. Este varía según la especie y condición de germinación (Kaprielou et al., 2020).

Se ha identificado que la germinación en leguminosas aumenta el contenido de compuestos fenólicos (Tabla 2). Por ejemplo, se encontró que la germinación en garbanzo (*Cicer arietinum*) incrementó su contenido de compuestos fenólicos de 0.52 mg GAE/g peso en seco a 1 mg GAE/g peso en seco con un aumento del 92.30% (Mamilla & Mishra, 2017).

A su vez, en estudios en los que se ha llevado a cabo la germinación de soya (*Glycine max*), se ha presentado un incremento considerable en la cantidad de polifenoles, especialmente en el contenido de isoflavonas, las cuales aumentaron en un 215% durante una germinación de 6 días (Guzmán-Ortiz et al., 2017).



**Figura 1. Proceso de germinación (Nkhata et al., 2018).**

Otro estudio tuvo como objetivo determinar el efecto de la germinación en los perfiles fitoquímicos y la actividad antioxidante de los brotes de frijol mungo (*Vigna radiata L.*), se demostró que la germinación incrementó considerablemente los compuestos fenólicos totales y los flavonoides totales en brotes de éste de manera dependiente del tiempo, hasta 4.5 y 6.8 veces mayor que la concentración original de semillas sin germinar, respectivamente (Guo, X., Li, T., Tang, K., & Liu, R. H, 2012).

El consumo de semillas germinadas se relaciona con una reducción del estrés oxidativo al aumentar los niveles de antioxidantes en plasma sanguíneo y la actividad de las enzimas antioxidantes en diferentes tejidos animales (Saleh et al., 2019).

De acuerdo con los datos en la (Tabla 2) se puede observar que las leguminosas presentan importante cantidad de compuestos fenólicos, en especial una vez que pasan por un proceso de germinación generando un incremento de estos.

**Tabla 2. Cambios en el perfil de compuestos fenólicos por proceso de germinación en leguminosas.**

Leguminosas	Contenido de polifenoles		% incremento	Referencia
	No germinadas	Germinadas		
Frijol de carita ( <i>Vigna unguiculata</i> )	^3.30	^3.70	12.12	(Aguilera et al., 2013)
Frijol Jack ( <i>Canavalia ensiformis</i> L.)	^2.30	^3.60	56.52	(Aguilera et al., 2013)
Mucuna ( <i>Stizolobium niveum</i> L.)	^37.40	^46.30	23.79	(Aguilera et al., 2013)
Soya ( <i>Glycine max</i> )	^1.50	^2.40	60	(Mamilla&Mishra, 2017)
Garbanzo ( <i>Cicer arietinum</i> )	^0.52	^1.0	92.30	(Mamilla&Mishra, 2017)
Frijol mungo ( <i>Vigna radiata</i> )	^1.00	^2.50	150	(Mamilla&Mishra, 2017)
Lenteja roja ( <i>Lens culinaris</i> )	^0.40	^1.80	350	(Mamilla&Mishra, 2017)
Frijol ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	^3.79	^4.5	18.73	(Aguilera et al., 2014)
Frijol Sword ( <i>Canavalia gladiata</i> )	*0.40	*0.58	45	(Gan et al., 2017)
Frijol mungo ( <i>Vigna radiata</i> )	^0.10	^1.20	1,100	(Huang et al., 2014)
Soya negra ( <i>Glycine max</i> (L.) Merr.)	*0.70	*1	42.85	(Gan et al., 2017)
Frijol Adzuki ( <i>Vigna angularis</i> (Willd.) Ohwi & H. Ohashi)	*0.43	*0.80	86.04	(Gan et al., 2017)
Frijol Mungo ( <i>Vigna radiata</i> )	^1.71	^9.66	464.91	(Guo et al., 2012)

^mg acido gálico/g de peso seco

\*mg acido gálico/g de peso húmedo

### 2.3 Haba (*Vicia faba* L.)

El haba (*Vicia faba* L.) da nombre a la familia de las fabáceas. Es una planta con tallo grueso y recto, con un follaje verde grisáceo. La vaina es de color verde cuando se encuentran inmaduras, se oscurece y torna una tonalidad amarillenta al secarse. Dentro de la vaina se pueden encontrar de 2 a 9 semillas puestas en fila, son tiernas cuando no han madurado y de color blanco a verde. Figura 2. Los nódulos de la raíz de la planta tienen la propiedad de fijar nitrógeno en el suelo, por lo que el cultivo se emplea en sistemas de rotación para fortalecer suelos agotados (Valero Gaspar, 2018).

Es una leguminosa ampliamente cultivada, conocida por el potencial de rendimiento y contenido nutricional. Tiene una gran capacidad de crecer bajo riego limitado y una salinidad moderada por lo tanto es uno de los cultivos preferidos para la producción agrícola que se realiza en tierras áridas y semiáridas (Bhattacharya, 2019).

Se cultiva en todo el mundo bajo diferentes sistemas de cultivo y se consume como grano seco y granos frescos. Se ha demostrado que el haba contribuye a la sustentabilidad de los sistemas de cultivo debido a su capacidad de aportar nitrógeno al sistema mediante la fijación de  $N_2$ , la diversificación de los sistemas de producción que conducen a una disminución de enfermedades, plagas y acumulación de maleza, además de tener la capacidad de reducir el consumo de energía fósil y con esto generar habas con gran valor nutricional (Fouad et al., 2013).

Las variedades de haba se distinguen en especial por el tamaño de sus semillas.

- En *Vicia faba* var. minor, las semillas son pequeñas, pesando entre 0.3 y 0.7 g cada una, y son de forma elipsoidal. La vaina es cilíndrica y alcanza los 15 cm de largo.
- En *Vicia faba* var. equina, las semillas son de tamaño mediano y chatas, pesando entre 0,7 y 1,1 g. Las vainas son moderadamente dehiscentes.
- En *Vicia faba* var. major, la más usada para consumo fresco, las semillas pesan entre 1,2 y 1,8 g. La vaina alcanza 35 cm de largo.



**Figura 2. Planta de Haba (*Vicia faba L.*) (Thomé, 1885).**

Las semillas de haba (*Vicia faba L.*) son ricas en proteínas, carbohidratos, fibra, vitaminas y minerales y compuestos fenólicos. Se ha encontrado que tienen un efecto hipocolesterolémico. Respecto a su contenido de vitaminas destacan la vitamina C y los folatos, seguidos de la tiamina y niacina. En cuanto a su contenido mineral, cabe destacar la presencia de potasio, el cual contribuye al funcionamiento normal del sistema nervioso y de los músculos (Valero Gaspar, 2018).

El uso más común de las habas es en países en desarrollo, debido a que son relativamente más baratas y su rendimiento es mayor, en comparación con los productos cárnicos. Sin embargo, el valor biológico en micro y macronutrientes de las habas se ve afectado de manera negativa debido a la presencia de factores antinutricionales, como los son los inhibidores de la tripsina, los taninos condensados y las hemaglutininas. Por lo tanto, la eliminación de estos antinutrientes es necesaria para el adecuado aprovechamiento de los nutrimentos. Estos factores, se pueden destruir fácilmente mediante un proceso térmico o mediante un proceso de germinación el cual genera otros beneficios como el aumento de la cantidad de compuestos fenólicos (Revilla, 2015). Por lo tanto, las habas son leguminosas con una adecuada composición nutricional y con ciertas características como su capacidad de crecimiento bajo riego limitado, una salinidad moderada, entre otras que favorecen su cultivo.

#### **2.4 Composición nutricional del haba (*Vicia faba L.*)**

En la tabla 3 se muestra la composición nutricional del haba (*Vicia faba L.*) cruda (sin cocción) y posterior a su cocción.

**Tabla 3. Composición nutricional del haba (*Vicia faba L.*) cruda y cocida.**

<b>Composición</b>	<b>Cantidad por 100 (g) de porción comestible cruda</b>	<b>Cantidad por 100 (g) de porción comestible cocida</b>
Valor energético (Kcal)	341	110
Agua (g)	10.98	71.54
Proteínas (g)	26.12	7.06
Grasa (g)	1.53	0.40
Grasas monoinsaturadas (g)	0.303	0.079
Grasas poliinsaturadas (g)	0.627	0.279
Grasas saturadas (g)	0.254	0.112
Hidratos de carbono (g)	58.29	19.65
Azúcares (g)	5.70	1.82
Fibra (g)	25.0	5.40
Sodio (mg)	13	5
Potasio (mg)	1062	268
Calcio (mg)	103	36
Fósforo (mg)	421	125
Magnesio (mg)	192	43
Hierro (mg)	6.70	1.50
Zinc (mg)	3.14	1.01
Vitamina A (mg)	3	1
Vitamina K (µg)	9.0	2.9
Vitamina C (mg)	1.4	0.3
Tiamina (mg)	0.555	0.097
Riboflavina (mg)	0.333	0.089
Niacina (mg)	2.832	0.711
Vitamina B6 (mg)	0.366	0.072

(USDA, 2018).

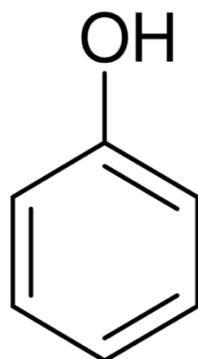
## 2.5 Generalidades de los compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos constituyen un grupo de compuestos derivados del metabolismo secundario de plantas y se encuentran significativamente distribuidos en alimentos de origen vegetal (Baginsky et al., 2013).

Desempeñan un papel estructural, trabajando en señalización, defensa y contra el daño oxidativo (García-Salas, P., Morales-Soto, A., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A, 2010). Los compuestos fenólicos pueden tener uno o más grupos hidroxilo unidos directamente a un anillo aromático. El fenol es la estructura sobre la cual se basa todo el grupo. Los compuestos fenólicos como grupo, generalmente se encuentran como ésteres o glucósidos en lugar de compuestos libres (Vermerris, Wilfred & Nicholson, Ralph, 2006).

Los compuestos fenólicos son en muchos aspectos similares a los alcoholes de estructuras alifáticas donde el grupo hidroxilo está unido a una cadena de carbonos. El grupo hidroxilo fenólico, sin embargo, está influenciado por la presencia del anillo aromático. Debido al anillo aromático, el hidrógeno del hidroxilo fenólico es lábil, lo que hace que los fenoles sean ácidos débiles (Vermerris, Wilfred & Nicholson, Ralph, 2006).

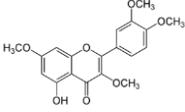
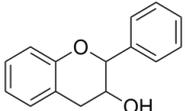
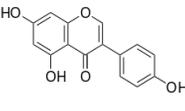
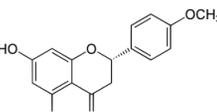
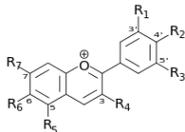
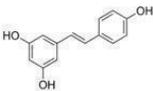
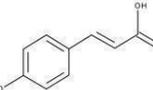
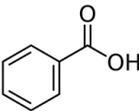
El fenol es la molécula básica de los compuestos fenólicos la cual se compone de un anillo aromático (fenil) el cual se encuentra unido a un grupo hidroxilo (OH). El anillo aromático juega un papel importante en las propiedades antioxidantes (Bravo et al., 2015).



**Figura 3. Estructura química del fenol (Bravo et al., 2015).**

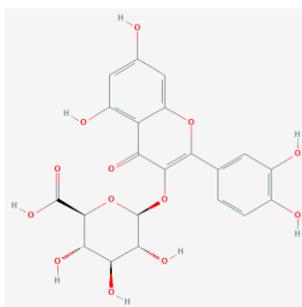
En la tabla 4 se muestran los compuestos fenólicos extraíbles más comunes en alimentos de origen vegetal.

**Tabla 4. Tabla de clasificación de compuestos fenólicos.**

Compuestos fenólicos extraíbles	Ejemplos	Estructura general
Flavonoles	Rutina Quercetina Miricetina Kaempferol Glicósidos de quercetina	
Flavanoles	Catequina Epicatequina Galocatequina Epicatequina galato Epigallocatequin galato Galocatequin galato	
Isoflavonas	Daiceína Genisteína Daicina Genistina	
Flavanonas	Naringenina Naringina Hesperetina Hesperidina Floridzina	
Antocianidinas	Malvidina Cianidina Delfinidina Petunidina Glucósidos de antocianidinas	
Estilbenos	Resveratrol	
Ácidos hidroxicinámicos	Ácido clorogénico Ácido cafeico Ácido ferúlico Ácido sinápico Ácido trans-cinámico	
Ácidos benzoicos	Ácido p-hidroxibenzoico Ácido gálico Ácido protocatéquico Ácido vanílico Ácido siríngico Ácido elágico Ácido tánico Ácido gentísico	

Tomado de (Arranz-Martínez, 2010), adaptado por (Rodríguez-Heredia, 2017).

Para los humanos, el control de los radicales libres por compuestos fenólicos de fuentes vegetales puede tener efectos positivos en la salud, en especial en patologías como el sobrepeso y la obesidad, incluido el control de diferentes tipos de cáncer (Stanković, M. S., Petrović, M., Godjevac, D., & Stevanović, Z. D., 2015). Se han estudiado ampliamente durante la última década por sus propiedades antiobesogénicas y antioxidantes principalmente (Aranaz et al., 2019). Son resistentes a la oxidación y protegen el daño celular para prevenir el riesgo de enfermedades degenerativas gracias a sus actividades antialérgicas, anticancerígenas, antioxidante y antiinflamatoria (Khang, D., Dung, T., Elzaawely, A., & Xuan, T., 2016). En leguminosas como el haba se producen metabolitos especializados, con estructuras diversificadas que se han definido como metabolitos secundarios los cuales pertenecen a tres grupos principales terpenoides, alcaloides y compuestos fenólicos. Presentan funciones fisiológicas importantes en las leguminosas, protegen a las plantas contra enfermedades, patógenos, la interperie (Corso, M., Perreau, F., Mouille, G., & Lepiniec, L., 2020). Los metabolitoa de digestión de los compuestos fenólicos se conocen como glicósidos, debido a que presentan un enlace glicosídico que se forma cuando una molécula de azúcar (glucosa, galactosa, ramnosa, arabinosa, xilosa y glucurónico) se condensa con otra que contiene un grupo hidroxilo como lo es en el caso de la molécula básica de los compuestos fenólicos (fenol) la cual se compone de un anillo aromático (fenil) el cual se encuentra unido a un grupo hidroxilo (OH) y con esto formando los glicósidos de los compuestos fenólicos (Corso, M., Perreau, F., Mouille, G., & Lepiniec, L., 2020).



**Figura 4. Glicósido de quercetina Quercetin-3-O-glucurónico (PubChem, 2021).**

En la figura 4, se observa la Quercetin-3-O-glucurónido un glicósido de quercetina unido a beta-D-glucuronopiranosilo en la posición 3 a través de un enlace glicosídico, presenta un papel como glicósido (metabolito) y es un ácido beta-D-glucosidurónico y un O-glicósido de quercetina (PubChem, 2021).

La adición de un grupo glucosídico en compuestos fenólicos ocurre dentro de la función O-H en la posición C3, C5 y C7 del compuesto fenólico (aglicona), beneficiando la acumulación, transporte y bioactividad de los mismos. Las sustituciones mas comunes de azúcar son la glucosa y ramnosa (Corso, M., Perreau, F., Mouille, G., & Lepiniec, L., 2020).

A su vez, los compuestos fenólicos se presentan como agliconas al ser compuestos sin la presencia de un azúcar el cual puede ser una molecula de glucosa, galactosa, ramnosa, arabinosa, xilosa o glucurónico (Corso, M., Perreau, F., Mouille, G., & Lepiniec, L., 2020).

## **2.6 Contenido de compuestos fenólicos en haba (*Vicia faba* L.)**

La presencia de compuestos fenólicos en las habas se encuentra a través de todo el cuerpo de la planta, así como en diferentes estadíos de desarrollo y después de ser sometida a varios procesos alimentarios. Se evaluó el contenido de compuestos fenólicos presentes en diez distintas variedades de haba inmaduras, se encontró que el contenido de compuestos fenólicos en las distintas variedades de haba se encuentra en un rango de 817.02 a 1337.82 mgE ácido gálico /L (Baginsky et al., 2013).

En otro estudio se cuantificó la cantidad de compuestos fenólicos en distintas presentaciones del haba: crudas, hervidas y al vapor. Las semillas enteras de haba maduras y crudas fueron las que presentaron mayor cantidad de compuestos fenólicos totales con 36.35 mg GAE/g de peso seco, mientras que las inmaduras al vapor presentaron la cantidad de 28.33 mg GAE/g de peso seco de compuestos fenólicos totales y las habas inmaduras hervidas presentaron 20.16 mg GAE/g peso seco de compuestos fenólicos totales. Estos resultados muestran que un proceso culinario puede modificar el contenido de compuestos fenólicos que aporta el haba

y qué opción de ingesta es la mas recomendable para obtener un mayor beneficio nutricional (Boukhanouf, S., Louaileche, H. & Perrin, D, 2016).

Se ha reportado que el solvente utilizado para la obtención de los extractos influye en el resultado de la cantidad de compuestos fenólicos. Con el extracto acetónico de haba se obtuvo un contenido total más alto de polifenoles y flavonoides en comparación con el extracto etanólico y acuoso, presentando una actividad antioxidante de los compuestos fenólicos de haba para el porcentaje de inhibición (actividad de captación de radicales libres) de 86.47%, el contenido máximo de fenol se observó en el caso del extracto de acetona ( $33,87 \pm 0,70$  equivalente de ácido gálico / g de peso seco) y el contenido máximo de flavonoides se encontró en el extracto de acetona ( $27,93 \pm 0,45$  equivalente de quercetina / g de peso seco) (Choudhary, D. K., & Mishra, A, 2019).

En la base de datos de Phenol-Explorer se encuentra información del contenido de algunos compuestos fenólicos presentes en semillas de haba, como catequina con 12.83 mg/100 g en peso húmedo, epicatequina con 22.51 mg/100 g en peso húmedo y epigallocatequina con 14.03 mg/100 g en peso húmedo (Phenol-Explorer, 2021).

En la misma base de datos, se obtuvo información del contenido de algunos compuestos fenólicos en vainas de haba, como catequina con 16.23 mg/100 g en peso húmedo, galocatequina con 9.68 mg/100 g en peso húmedo, epicatequina con 37.55 mg/100 g en peso húmedo, epigallocatequina con 17.38 mg/100 g en peso húmedo, kaempferol con 0.03 mg/100 g en peso húmedo, también se presenta el contenido de compuestos fenólicos en algunos glicósidos como quercetin 3-O-galactosido 7-O-rhamnosido con 14.15 mg/100 g en peso húmedo, kaempferol 3-O-galactosido 7-O-rhamnosido con 6.00 mg/100 g en peso húmedo (Phenol-Explorer, 2021).

En la revisión de literatura, hay poca literatura relacionada con la germinación de haba y su incremento en la concentración de compuestos fenólicos, por lo que se busca utilizar este tipo de proceso, que potencialmente generará en las habas un incremento del contenido de compuestos fenólicos y un beneficio mayor a la salud de la población (Baginsky et al., 2013).

## **2.7. Estudios realizados con compuestos fenólicos presentes en haba (*Vicia faba* L.)**

En un estudio *in silico* se observó la capacidad adipogénica de compuestos fenólicos, mediante un ensayo de acoplamiento molecular, para determinar la afinidad de unión con el receptor PPAR $\gamma$ , algunos de los compuestos fenólicos estudiados en este artículo se encuentran presentes en las habas y presentaron una energía libre de unión con PPAR $\gamma$  considerable. Quercetina presentó una energía libre de unión de -5.07, kaempferol -5.27, luteolina -5.84, entre otros (Aranaz et al., 2019).

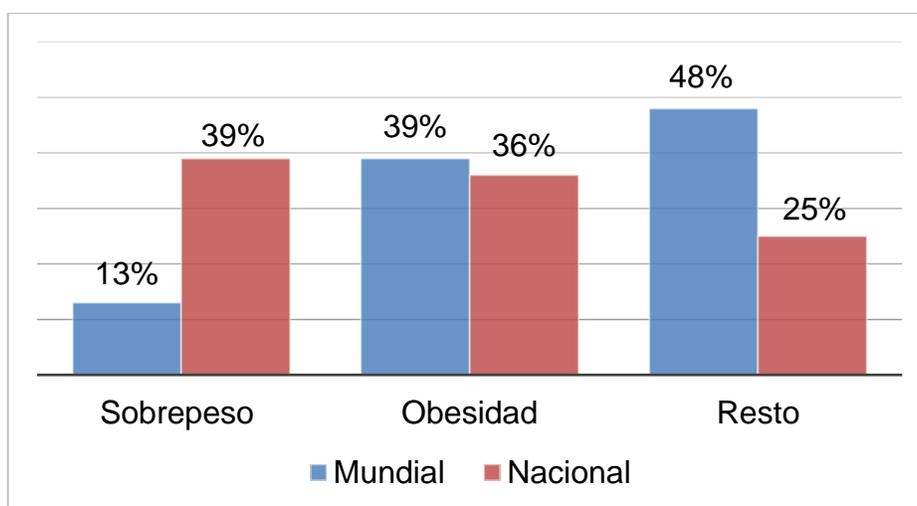
En un estudio *in vitro* con extracto de acetona, metanol, etanol y agua de haba se observó el efecto protector contra el estrés oxidativo, dando como resultado un efecto protector a la muerte celular en la línea celular 3T3-L1, generando una reducción en la tasa de apoptosis (Choudhary et al., 2020).

Un estudio elaborado por Mejri y colaboradores, (2018) investigó la composición química en habas, en especial el contenido de minerales, ácidos grasos y compuestos fenólicos, donde el extracto con metanol fue el que exhibió un mayor contenido de compuestos fenólicos, los flavonoides glucósidos y agliconas presentaron alta polaridad. Se evaluó la actividad biológica del haba en un estudio *in vivo* con ratones diabéticos a los cuales se les administró vía oral el extracto de metanol (500 mg/kg de peso corporal), generó un efecto positivo en la normalización del estado del perfil lipídico, mitigó el estrés oxidativo a través de la activación de enzimas antioxidantes (CAT, GPx Y sod), y alivió los cambios histopatológicos mediados por estrés oxidativo en páncreas, hígado y riñón.

Distintos estudios clínicos han demostrado que variedades de leguminosas presentan efectos benéficos a la salud, gracias al contenido de compuestos fenólicos, también presentes en habas. La ingesta regular disminuye los niveles de colesterol total, de colesterol LDL sérico y eleva los niveles de colesterol HDL. Por ejemplo, se demostró que dos semanas de consumo regular de Frijoles Comunes (*Phaseolus vulgaris* L.) en individuos con hipercolesterolemia mostraron una reducción significativa de colesterol total en un 12% y de colesterol LDL en un 15% (Ganesan & Xu, 2017).

## 2.8 Sobrepeso y obesidad

El sobrepeso y la obesidad se definen como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud. En 2016, a nivel mundial el 39% de las personas adultas de 18 o más años tenían sobrepeso, y el 13% presentaban obesidad (figura 3). Desde 1975, la obesidad se ha casi triplicado en todo el mundo. Presentar sobrepeso u obesidad aumenta el riesgo a presentar dislipidemias, diabetes mellitus, enfermedades cardiovasculares, algunos cánceres (OMS, 2020). En la figura 3 se muestra el porcentaje de población adulta con sobrepeso y obesidad a nivel mundial según la OMS y a nivel nacional (México) en 2018 según la Encuesta nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT).



**Figura 5. Sobrepeso y obesidad en adultos a nivel mundial en 2016 según la OMS (OMS, 2020) y a nivel nacional en 2018 según la ENSANUT (INSP, 2020).**

Una de las principales causas de sobrepeso y obesidad es un desequilibrio energético entre calorías que se han consumido y las calorías que se gastan, a nivel mundial existe una alta prevalencia en el aumento de la ingesta de alimentos de alto contenido calórico que son ricos en grasa y un descenso en la actividad física debido a la naturaleza cada vez más sedentaria de muchas formas de trabajo, los nuevos modos de transporte y la creciente urbanización, lo que en conjunto favorecen el aumento del porcentaje de personas con sobrepeso u obesidad (OMS, 2020).

Según la ENSANUT publicada en el año 2018 se aumentaron las cifras de sobrepeso y obesidad en comparación con el año 2016. Se presentó una

prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad en adultos de un 75.2%, en mujeres adultas se presenta una prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad del 76.8% y en hombres del 73.0% (INSP, 2020).

Además, la ENSANUT presentó resultados sobre los porcentajes de sobrepeso y obesidad en el estado de Nuevo León en el año 2016, reportando un porcentaje del 71% con presencia de sobrepeso y obesidad (Ávila et. al., 2016).

De acuerdo con las gráficas de sobrepeso y obesidad a nivel mundial, nacional y estatal, se observa que existe similitud en los resultados, con más del 50% de la población con un estado de sobrepeso u obesidad, lo que nos lleva a la necesidad de generar estudios y estrategias con base científica para impactar de manera significativa en la disminución de los porcentajes de sobrepeso y obesidad.

Una alternativa es el consumo de ciertas especies vegetales que por el aporte nutrimental y de compuestos bioactivos que presentan, y de acuerdo con evidencia científica se ha observado que tienen un efecto en la disminución de tejido adiposo en diferentes niveles de estudio

## **2.9 Proceso fisiológico de la obesidad**

La obesidad se define como la acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud, representando de esta manera un problema de salud a nivel mundial (Torres-Villarreal, D., Camacho, A., Castro, H., Ortiz-Lopez, R., & de la Garza, A. L, 2019).

Este proceso de adipogénesis se presenta generando un aumento tanto en tamaño como en número de los preadipocitos en la generación de adipocitos maduros mediante un proceso de diferenciación (Aranaz et al., 2019).

El aumento de tejido adiposo genera un estado de sobrepeso y obesidad y se localiza en mayor o menor cantidad en distintas partes del organismo, las células adiposas en obesidad son mayores tanto en tamaño como en número en comparación con las células adiposas presentes en un rango de peso normal (Mendez-Sanchez, 2013).

La adipogénesis está regulada por distintos factores transcripcionales como el receptor de peroxisoma proliferador activado gamma (PPAR $\gamma$ ), que se expresa a niveles altos en el tejido adiposo, este receptor induce la expresión de distintos genes que contribuyen con el proceso de diferenciación de los preadipocitos en forma de fibroblastos en adipocitos maduros con lípidos almacenados (Aranaz et al., 2019).

### **2.10 Obesidad y PPAR $\gamma$**

El proceso de adipogénesis es un proceso que está estrechamente regulado por activaciones secuenciales de distintos factores transcripcionales, como la proteína de unión potenciadora de CCAAT alfa (C/EBP $\alpha$ ) y el receptor gamma activado por proliferador de peroxisomas (PPAR $\gamma$ ) los cuales inducen la expresión de genes implicados en el almacenamiento de lípidos y además contribuyen a la maduración de adipocitos (Aranaz et al., 2019; Ganesan & Xu, 2017).

El receptor PPAR $\gamma$  pertenece a la familia del receptor nuclear de factores de transcripción dependientes de ligando, estructuralmente contiene seis dominios, el dominio de unión al ligando es el que constituye la mayor parte de la proteína, y es el responsable de la habilidad que presenta PPAR $\gamma$  para inducir la adipogénesis (Lefterova, M. I., Haakonsson, A. K., Lazar, M. A., & Mandrup, S, 2014).

Se han presentado distintas moléculas como ligandos biológicos de PPAR $\gamma$ , los cuales interactúan con distinta afinidad hacia el dominio de unión al ligando y con una posible modulación de la actividad del receptor PPAR $\gamma$  (Aranaz et al., 2019). Se han estudiado algunos compuestos fenólicos y su relación con la inhibición de la adipogénesis y se han sugerido que actúan como posibles ligandos presentando interacciones moleculares con el dominio de unión al ligando de PPAR $\gamma$  por sus propiedades anti obesogénicas. Dichas interacciones pueden estar determinadas por la afinidad de unión que presenten con el receptor y por consecuencia presentar la capacidad de modular su actividad (Aranaz et al., 2019).

Además, de que PPAR $\gamma$  se requiere para llevar a cabo el proceso adipogénesis, también se requiere para la regulación de la sensibilidad a la insulina, la lipogénesis y la supervivencia y función de los adipocitos (Lefterova et al., 2014).

De acuerdo con evidencia científica se ha demostrado que estudios a nivel celular demostraron que PPAR $\gamma$  se induce durante la adipogénesis y es necesario para dicha diferenciación, estableciéndose de esta manera como un regulador maestro de la adipogénesis, por esta razón la relevancia de estudiar el efecto de compuestos fenólicos y su interacción con PPAR $\gamma$  generando una posible inhibición de su actividad (Lefterova et al., 2014).

### **2.11 Modelo *in silico* para evaluar la interacción de compuestos fenólicos y sus metabolitos con el receptor PPAR $\gamma$**

Los modelos *in silico* son estudios que se realizan mediante una simulación por computadora. El término *in silico* proviene del componente de computadora silicio; Este tipo de estudio genera predicciones utilizando enfoques computacionales, su principal ventaja es que se pueden obtener resultados para un gran conjunto de compuestos en un modo de alto rendimiento.

Sus resultados se basan en la estructura de un compuesto (Vogel et al., 2013). Por lo tanto, el uso de un modelo *in silico* permite evaluar la actividad inhibitoria de compuestos fenólicos presentes en alimentos como el haba, con receptores involucrados en la adipogénesis como PPAR $\gamma$ . Esto, mediante el empleo de un análisis de acoplamiento molecular, se puede observar la capacidad para modular la actividad del receptor PPAR $\gamma$  por parte del compuesto fenólico, generando de esta manera una visión mecanicista de los efectos de los compuestos sobre la adipogénesis, de la misma manera se puede realizar este proceso con metabolitos de compuestos fenólicos los cuales se han producido a partir de la digestión de los mismos, observando su efecto sobre adipogénesis mediante un proceso de mayor agilidad en comparación con estudios *in vitro* e *in vivo* (Aranaz et al., 2019). Los resultados del acoplamiento molecular de los compuestos con el receptor utilizado se presentan como valores de energía libre de unión y se expresan en (Kcal/mol), de esta manera se clasifican los compuestos por su energía libre estimada de unión al receptor, que en este caso sería PPAR $\gamma$  (Prabhu & Rajeswari, 2018).

La energía libre de unión es representativa de la precisión con la cual el ligando se une a la proteína, valores de energía más bajos (más negativos) corresponden a

una unión más favorable, mientras que los valores más cercanos a 0 son menos favorables (Djanic et al., 2016).

Para llevar a cabo el método *in silico* se utiliza un DockingServer de código abierto denominado AutoDock vina (<http://vina.scripps.edu/>) con licencia apache, un programa de acoplamiento molecular y cribado virtual creado por el Dr. Oleg Trott en el Laboratorio de Gráficos Moleculares del Instituto de Investigación Scripps, es un procedimiento computacional que genera una predicción de la unión no covalente de macromoléculas (receptor) y de moléculas pequeñas (ligando) de manera eficiente, generando una predicción de las conformaciones unidas y la afinidad de unión (Trott & Olson, 2010).



**Figura 6. DockingServer AutoDock vina (Morris et al., 2012)**

A su vez, se utilizan otros programas como Avogadro (<https://avogadro.cc/>) con licencia pública general GNU, creado a finales del año 2006 y se inició en el año 2007. Durante los primeros 5 años de desarrollo se ha descargado más de 270,000 veces y tiene más de 20 colaboradores. Ofrece un constructor químico semántico y una plataforma para la visualización y análisis de moléculas, diseñado para el uso multiplataforma en química computacional, modelado molecular, bioinformática, ciencia de materiales y áreas relacionadas. Presenta un soporte integrado para la descarga de bases de datos como PubChem y Protein Data Bank (PDB) extrayendo datos químicos de una amplia variedad de formatos. Permite la visualización de las estructuras de los polifenoles en formato 3D (Hanwell et al., 2012), los cuales se obtienen en formato SDF de la base de datos PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>), un deposito publico de propiedades biológicas de moléculas pequeñas organizado por los Institutos Nacionales de Salud de EE.

UU. (NIH) creado en 2004 convirtiéndose en un recurso de información química clave para científicos, actualmente contiene resultados de pruebas biológicas de más de 700,000 compuestos (Wang et al., 2009), dichas moléculas se transforman a formato MOL2 por medio de Avogadro para poder utilizarse en otros programas.



**Figura 7. Avogadro software**

Además, se utiliza el servidor Protein Data Bank (PDB) (<https://www.rcsb.org/>) que desde 1971 ha servido como un depósito de información sobre las estructuras 3D de proteínas, ácidos nucleicos y ensamblajes complejos, convirtiéndose en el primer recurso de datos digitales de acceso abierto en las ciencias biológicas, de donde se obtienen distintas estructuras como la estructura tridimensional de PPAR $\gamma$  en la secuencia 1PRG. El archivo de la PDB contiene actualmente ~ 130.000 entradas (mayo de 2017) y está gestionado por la organización Worldwide Protein Data Bank (Burley et al., 2017).

Además, para realizar el acoplamiento molecular se utiliza el programa PyRx (<https://pyrx.sourceforge.io/>) con licencia BSD, un programa de código abierto con una interfaz de usuario intuitiva que está escrito en el lenguaje de programación Python y puede ejecutarse en cualquier computadora, permite la detección virtual para el descubrimiento computacional de fármacos, que se puede utilizar para analizar bibliotecas de compuestos frente a posibles dianas de fármacos. Además, el programa PyRx utiliza una gran cantidad de programas de código abierto incluyendo el programa AutoDock Vina con el cual se realiza el acoplamiento molecular (Dallakyan & Olson, 2015).

### III. JUSTIFICACIÓN

De acuerdo con la FAO, se considera que las leguminosas tienen un elevado contenido de nutrientes. Entre las más consumidas en todo el mundo se destacan los frijoles (*Phaseolus vulgaris*), los garbanzos (*Cicer arietinum* L.) y las habas (*Vicia faba* L.) (FAO, 2016).

Las habas son legumbres que contienen compuestos fenólicos con capacidad antioxidante, sin embargo, hay pocos reportes sobre el efecto de la germinación sobre este cultivo, siendo dicho proceso, un proceso sencillo para el incremento de compuestos fenólicos, por lo que es una técnica importante para el incremento y posible biodisponibilidad de estos compuestos (Guzmán-Ortiz et al., 2017) que potencialmente presentan efectos positivos contra la obesidad a distintos niveles de estudio como *in vitro*, *in vivo* y clínico. Aun así, es importante indicar el posible efecto de estos bajo modelos predictivos *in silico*.

El sobrepeso y la obesidad es una de las patologías con mayor incidencia; de acuerdo con la OMS en el año 2016, el 39% de las personas adultas de 18 o más años tenían sobrepeso, y el 13% tenía obesidad a nivel mundial y en México un 75% tenía sobrepeso y obesidad en el año 2018 (ENSANUT, 2020). El aumento de tejido adiposo característico del sobrepeso y obesidad, (adipogénesis) se presenta generando un aumento tanto en tamaño como en número de los preadipocitos y en la generación de adipocitos maduros mediante un proceso de diferenciación (Aranaz et al., 2019). El proceso de adipogénesis es un proceso que está estrechamente regulado por activaciones secuenciales de distintos factores transcripcionales, como el receptor gamma activado por proliferador de peroxisomas (PPAR $\gamma$ ) el cual induce la expresión de genes implicados en el almacenamiento de lípidos y además contribuye a la maduración de adipocitos.

Por lo tanto, el estudiar mecanismos de regulación del sobrepeso y obesidad mediante compuestos bioactivos presentes en alimentos, es importante para generar nuevo conocimiento y empleo de distintos modelos que beneficien a aminorar esta epidemia. Por ende, la relevancia de estudiar el efecto antiadipogénico *in silico* de diversos compuestos fenólicos presentes en extractos de germinados de haba (*Vicia faba* L.) y sus glicósidos (metabolitos de digestión).

## **IV. HIPÓTESIS**

Los compuestos fenólicos extraídos de germinados de haba (*Vicia faba* L.), así como sus metabolitos de digestión, presentan un efecto antiadipogénico *in silico*.

## **V. OBJETIVOS**

### **5.1 Objetivo General**

Evaluar el efecto antiadipogénico *in silico* de compuestos fenólicos presentes en extractos de germinados de haba (*Vicia faba* L.), y sus metabolitos de digestión.

### **5.2 Objetivos específicos**

1. Evaluar el contenido de compuestos fenólicos en cuatro diferentes extractos de germinados de haba (*Vicia faba* L.).
2. Analizar la actividad antioxidante en cuatro diferentes extractos de germinados de haba (*Vicia faba* L.).
3. Evaluar el efecto antiadipogénico *in silico* de compuestos fenólicos presentes en extractos de germinados de haba (*Vicia faba* L.), y sus metabolitos de digestión, sobre el receptor PPAR $\gamma$ .

## VI. METODOLOGÍA

### 6.1 Diseño del estudio

Diseño de estudio experimental, descriptivo, analítico y transversal.

### 6.2 Estrategia general del desarrollo del estudio

En el diagrama de flujo 1 se muestra el esquema general del análisis de habas (*Vicia faba L.*) y las determinaciones planteadas en los objetivos específicos de esta investigación.

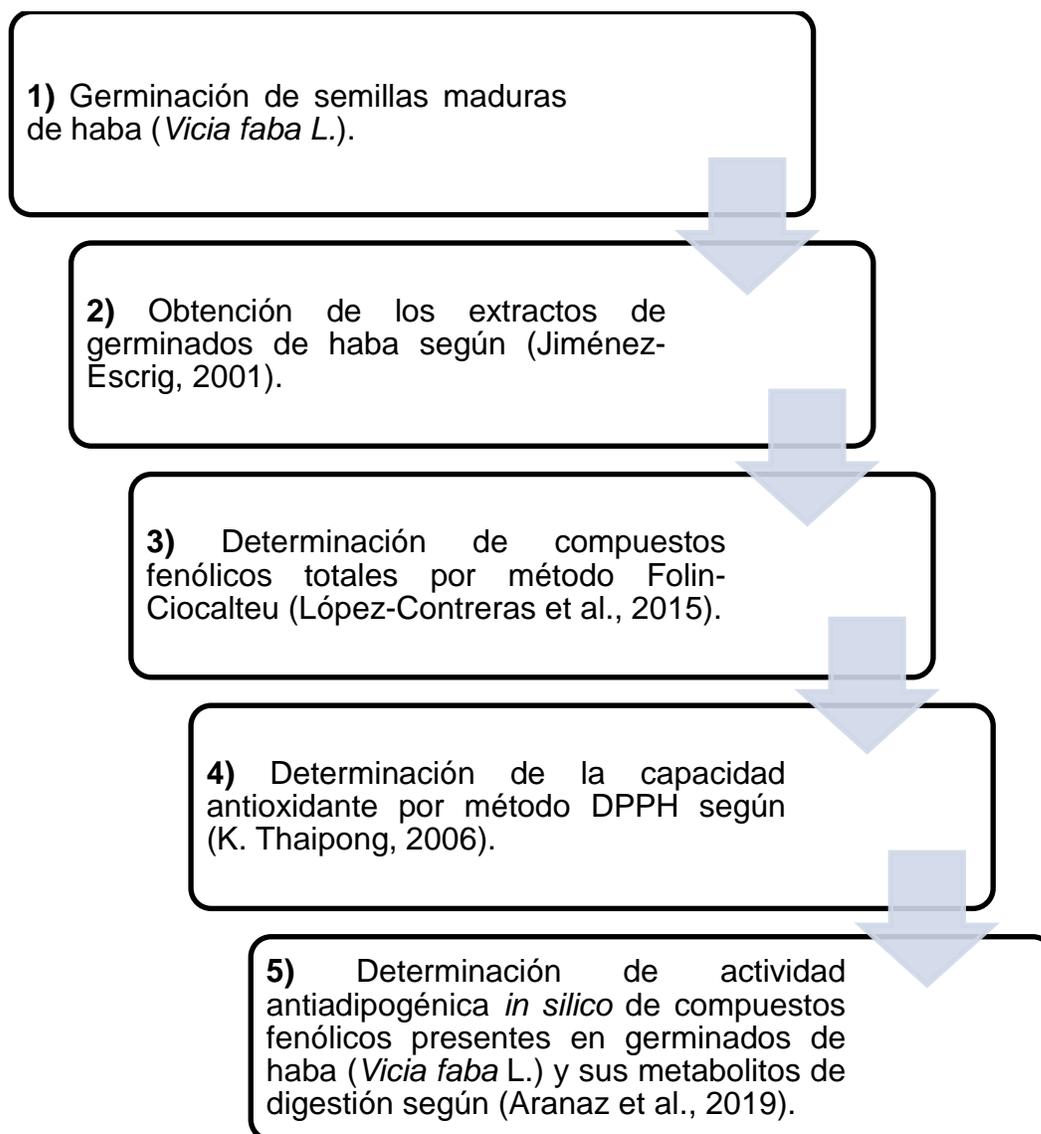


Figura 8. Diagrama de flujo de la estrategia general del desarrollo del estudio.

### 6.3 Materiales y reactivos empleados para la realización del estudio.

**Tabla 5. Materiales de laboratorio**

<b>Materiales</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>● Bolsas de polietileno</li> <li>● Vasos de precipitado</li> <li>● Matraces Erlenmeyer</li> <li>● Probetas 10, 50, 100 y 1000 mL</li> <li>● Tubos de plástico con tapa 15 y 50 mL.</li> <li>● Tubos de ensayo</li> <li>● Puntas para micropipeta</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Tubos de ensayo con rosca</li> <li>● Frascos de vidrio con tapa.</li> <li>● Espátulas metálicas</li> <li>● Varillas de vidrio</li> <li>● Agitadores magnéticos</li> <li>● Desecador de vidrio</li> <li>● Frascos de vidrio ámbar</li> <li>● Guantes</li> <li>● Lentes de protección</li> <li>● Cubreboca</li> </ul>
<b>Equipo</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>● Homogeneizador mill-IKA universal M20</li> <li>● Horno Felisa FE-292D</li> <li>● Extractor-Goldfish LABCONCO</li> <li>● Vortex Mixer Labnet S0200</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Refrigerador (-80, -20°C)</li> <li>● Centrífuga</li> <li>● Campana de flujo laminar nivel 2 (AirClean® Systems).</li> <li>● Espectrofotómetro</li> </ul>
<b>Reactivos</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>● Agua destilada</li> <li>● Etanol</li> <li>● Hipoclorito de sodio</li> <li>● Metanol/agua</li> <li>● HCl</li> <li>● Acetona/agua</li> <li>● Reactivo de Folin Ciocalteu</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Reactivo de DPPH</li> <li>● Metanol</li> <li>● Reactivo FRAP</li> </ul>

#### **6.4 Método para la germinación de semillas de haba (*Vicia faba L.*)**

Para llevar a cabo el proceso de germinación en las habas (*Vicia faba L.*), primero se desinfectaron por inmersión con etanol al 70% durante 2.5 minutos, seguido de hipoclorito de sodio al 2.5% durante 15 minutos. El etanol y el hipoclorito de sodio se eliminaron con cuatro enjuagues de agua estéril. Después de la desinfección, las habas se hidrataron en agua a  $18\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$  durante 17 horas. Posteriormente, se eliminó el agua. Las habas se germinaron en oscuridad en placas de Petri estériles a  $18^{\circ}\text{C} \pm 2$  con papeles de filtro Whatman número 2, humedecidos con agua estéril durante una semana. Las habas se analizaron en cuanto a materia seca, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante a lo largo del tiempo. Dependiendo de su tamaño y peso, 3 semillas de haba representan una réplica. Se realizaron de tres a seis réplicas para cada ensayo (Cevallos-Casals & Cisneros-Zevallos, 2010).

#### **6.5 Método para la obtención de extractos de germinados haba (*Vicia faba L.*)**

La obtención del extracto se realizó de acuerdo con la metodología adaptada de (Jiménez-Escrig, A., Jiménez-Jiménez, I., Pulido, R., & Saura-Calixto, F, 2001). Inicialmente, se utilizó 1 g del haba germinada molida y se colocó en tubo con 40 mL de metanol/agua (50:50), además se añadió HCl 1M para llegar a un pH final de 2.0. Posteriormente, se agitó el tubo a temperatura ambiente por 1 hora. Se centrifugó a 3,000 rpm por 10 min y se recuperó el sobrenadante. Al residuo que se obtuvo tras la primera centrifugación, se le adicionó 40 mL de acetona/agua (70:30) en 3 lavados en total (13, 13 y 14 mL), repitiendo los pasos de agitación y de centrifugación. Finalmente, se mezclaron los extractos, para liofilizarlos y almacenarlos en oscuridad a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta su uso (Jiménez-Escrig et al., 2001).

#### **6.6 Método para determinación de compuestos fenólicos totales**

Los compuestos fenólicos fueron analizados a partir de los extractos metanólico-acetónico. Se utilizó el método Folin-Ciocalteu para determinar la cantidad de compuestos fenólicos solubles totales (López-Contreras et al., 2015).

Primero se realizó la solución de stock de ácido gálico donde se pesaron 0.05 g de ácido gálico en un matraz aforado a 10 mL y después se agregaron 1 mL de etanol y se aforó con 10 mL de H<sub>2</sub>O destilada. Para la determinación, se filtró 1 mL del extracto obtenido en membrana de celulosa 0.45 µm, después 100 µL de muestra o blanco o estándar + 0.75 mL de reactivo de Folin Ciocalteu 0.2N, se agregaron 0.75 mL de solución de carbonato de sodio al 6%, se agitó y dejó a temperatura ambiente 90 min (oscuridad), se leyó la absorbancia a 760 nm y por último se realizó la curva de calibración con ácido gálico en concentraciones de 10 a 100 mg/L.

### **6.7 Método para la determinación de la capacidad antioxidante**

Para la determinación de la capacidad antioxidante por el método de DPPH, se pesaron 0.0024 g del reactivo de DPPH y se aforaron a 100 mL con metanol (solución a 60 µM) y la absorbancia del reactivo se ajustó a 0.7 en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 517 nm. Para la preparación de la muestra, a 0.2 mL de extracto se le agregaron 3.3 mL del reactivo de DPPH, se dejaron reaccionar por un período de 30 minutos a temperatura ambiente y finalmente se leyeron las absorbancias a 517 nm. Los resultados se expresaron como micromoles de equivalentes Trolox por gramo de muestra (µmolTE/g) utilizando una curva de calibración de Trolox (0-200 µmol/L). Este ensayo se realizó de acuerdo con lo descrito por (Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Hawkins Byrne, D, 2006). con modificaciones de (López-Contreras et al. 2015).

### **6.8 Método *in silico* para la determinación de la actividad sobre adipogénesis**

Inicialmente se obtuvo información sobre los principales polifenoles presentes en haba (*Vicia faba L.*), y los metabolitos de la digestión de éstos, por medio de distintas bases de datos como Phenol-Explorer (<http://phenol-explorer.eu/>) que es la primera base de datos completa sobre el contenido de polifenoles en los alimentos con más de 35.000 valores de contenido para 500 polifenoles diferentes en más de 400 alimentos.

La base de datos del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA) (<https://www.usda.gov/>) la cual desarrolla y ejecuta políticas de ganadería, agricultura y alimentación, almacena información del contenido nutricional de alimentos, como los principales compuestos fenólicos presentes en haba. PhytoHub (<http://phytohub.eu/>) una base de datos que contiene información detallada sobre los fitoquímicos dietéticos y sus metabolitos y FooDB (<https://foodb.ca/>) que genera información de compuestos presentes en los alimentos (Ivey, K. L., Croft, K., Prince, R. L., & Hodgson, J. M, 2016). Posteriormente, para realizar la determinación de la capacidad antiadipogénica de los compuestos fenólicos y los metabolitos de digestión, se implementó un ensayo de acoplamiento molecular *in silico*, el cual permitió determinar la afinidad de unión de los compuestos y los metabolitos con el receptor PPAR $\gamma$ . De acuerdo con la metodología de (Aranaz et al., 2019), se utilizó la estructura tridimensional de PPAR $\gamma$  en la secuencia 1PRG obtenida del Protein Data Bank (PDB) (<https://www.rcsb.org/>) que desde 1971 ha servido como un depósito de información sobre las estructuras 3D de proteínas, ácidos nucleicos y ensamblajes complejos (Burley et al., 2017).

Una vez obtenida la estructura 3D del receptor PPAR $\gamma$ , las estructuras 3D de los compuestos fenólicos y los metabolitos de digestión, se obtuvieron en formato SDF de la base de datos PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) del Instituto Nacional de Salud (NIH) creada en 2004 como un recurso de información química clave para científicos (Wang et al., 2009).

Para poder emplear los compuestos y los metabolitos obtenidos de PubChem se transformaron a formato MOL2 por medio del programa Avogadro (<https://avogadro.cc/>) con licencia pública general GNU, un visualizador y editor de moléculas que permite visualizar las estructuras de los compuestos en formato 3D (Hanwell et al., 2012), posterior a el cambio de formato de los compuestos, pudieron ser utilizados y realizar el acoplamiento molecular utilizando el programa PyRx.

PyRx (<https://pyrx.sourceforge.io/>) con licencia BSD, es un programa que permite la detección virtual para el descubrimiento computacional de fármacos, se puede utilizar para analizar bibliotecas de compuestos frente a posibles dianas de fármacos.

Además, el programa PyRx utiliza una gran cantidad de programas de código abierto incluyendo el programa AutoDock Vina (<http://vina.scripps.edu/>) con licencia apache, con el cual se realiza el acoplamiento molecular (Dallakyan & Olson, 2015). El programa PyRx se utilizó para emplear el programa AutoDock Vina creado por el Dr. Oleg Trott en el Laboratorio de Gráficos Moleculares del Instituto de Investigación Scripps, el cual permitió ejecutar la detección virtual de la afinidad de unión entre los compuestos fenólicos y los metabolitos de digestión con el receptor PPAR $\gamma$  (Trott, O., & Olson, A. J., 2010). La afinidad de unión que presentaron los compuestos fenólicos y los metabolitos con el receptor PPAR $\gamma$  se obtuvo mediante los valores de energía libre de unión expresada en (Kcal/mol), la cual es representativa de la precisión con la cual los compuestos fenólicos y los metabolitos se unieron a PPAR $\gamma$ , valores de energía de unión más bajos (más negativos) corresponden a una unión más favorable, a una modulación mayor y a un posible efecto antiadipogénico, mientras que los valores más cercanos a 0 son menos favorables.

### **6.9 Plan de análisis**

El análisis estadístico que se aplicó en este proyecto de investigación fue un análisis descriptivo que incluyó promedios, desviación estándar, coeficientes de variación y comparación de medias por prueba ANOVA.

### **6.10 Ética**

Toda la información generada de este trabajo es propiedad de la UANL, por lo que se guardará la confidencialidad de los datos.

### **6.11 Implicaciones y medidas de bioseguridad**

Para el desarrollo de la metodología se contempló el uso correcto de las normas y reglas de seguridad del Laboratorio de Alimentos del Centro de Investigación en Nutrición y Salud Pública de la Facultad de Salud Pública y Nutrición. El proyecto de investigación fue registrado como 19-FaSPyN-AG-04.TP, siendo revisado por el comité de la Maestría en Ciencias en Nutrición.

## VII. RESULTADOS

### 7.1 Rendimiento de extractos de germinados de haba (*Vicia faba L.*)

A partir de la germinación de las semillas de haba se obtuvieron los extractos correspondientes a cada día, así como sus respectivos rendimientos de compuestos fenólicos con la extracción alcohólica-acetónica descrita (tabla 6).

**Tabla 6. Rendimientos de extractos de germinados de haba (*Vicia faba L.*)**

Extracto	Día 0	Día 2	Día 4	Día 6
Rendimiento Promedio (%)	25.93 ± 7.85 <sup>c</sup>	20.73 ± 10.81 <sup>b</sup>	22.91 ± 14.55 <sup>b</sup>	17.80 ± 6.21 <sup>a</sup>

Valores expresados como media ± desviación estándar (n=3).

<sup>a-c</sup> Superíndices diferentes en la misma fila indican diferencia significativa (p < 0.05).

Los rendimientos fueron similares entre cada uno de los días de germinación en las réplicas analizadas, sin embargo, se presentó diferencia significativa (p<0.05) entre los distintos días.

### 7.2 Polifenoles totales de extractos de germinados de haba (*Vicia faba L.*)

La concentración de los compuestos fenólicos totales presentes en los germinados de haba, presentó un incremento constante conforme a los días de germinación, siendo el sexto día el de mayor concentración, duplicando la concentración respecto al día cero; estos valores presentaron una diferencia significativa (p<0.05), por lo tanto, el efecto de la germinación en las semillas de haba en relación con el aumento de compuestos fenólicos fue significativo, duplicándose del día 0 al día 6.

**Tabla 7. Polifenoles totales de extractos de germinados de haba (*Vicia faba* L.)**

<b>Polifenoles totales de extractos de germinados de haba (<i>Vicia faba</i> L.)</b>	
Día de germinado	Concentración (mg Equivalentes de ácido gálico/ litro)
0	793 ± 11.27 <sup>b</sup>
2	710 ± 13.23 <sup>a</sup>
4	1,266 ± 12.49 <sup>c</sup>
6	1,697 ± 17.69 <sup>d</sup>

Valores expresados como media ± desviación estándar (n=3).

<sup>a-c</sup> Superíndices diferentes en la misma columna indican diferencia significativa (p < 0.05).

### **7.3 Actividad antioxidante de extractos de germinados de haba (*Vicia faba* L.)**

La concentración de la actividad antioxidante en los extractos de germinados de haba presentó un incremento constante de los días 0 a 4 de germinación, siendo el cuarto día el que presentó diferencia significativa (p<0.05) respecto a los demás días. El día 6 disminuyó respecto al día 4, presentando valores estadísticamente similares al día 0 y 2.

**Tabla 8. Actividad antioxidante de extractos de germinados de haba (*Vicia faba* L.)**

<b>Actividad antioxidante de extractos de germinados de haba (<i>Vicia faba</i> L.)</b>	
Día de germinado	Concentración ( $\mu$ ME Trolox)
0	682.08 ± 43.03 <sup>a</sup>
2	692.58 ± 25.24 <sup>a</sup>
4	705.75 ± 24.64 <sup>b</sup>
6	699.92 ± 27.50 <sup>a</sup>

Valores expresados como media ± desviación estándar (n=3).

<sup>a-b</sup> Superíndices diferentes en la misma columna indican diferencia significativa (p < 0.05).

#### 7.4 Método *In silico* para la determinación de la actividad sobre adipogénesis

En la tabla número 9, se observan los principales compuestos fenólicos presentes en haba, reportados en la literatura por (Haytowitz, D.B., Wu, X., Bhagwat, S, 2018). Además, de sus valores de energía de unión con el receptor PPAR $\gamma$ , los cuales se obtuvieron utilizando el método *in silico* mediante un diagnóstico con DockingServer.

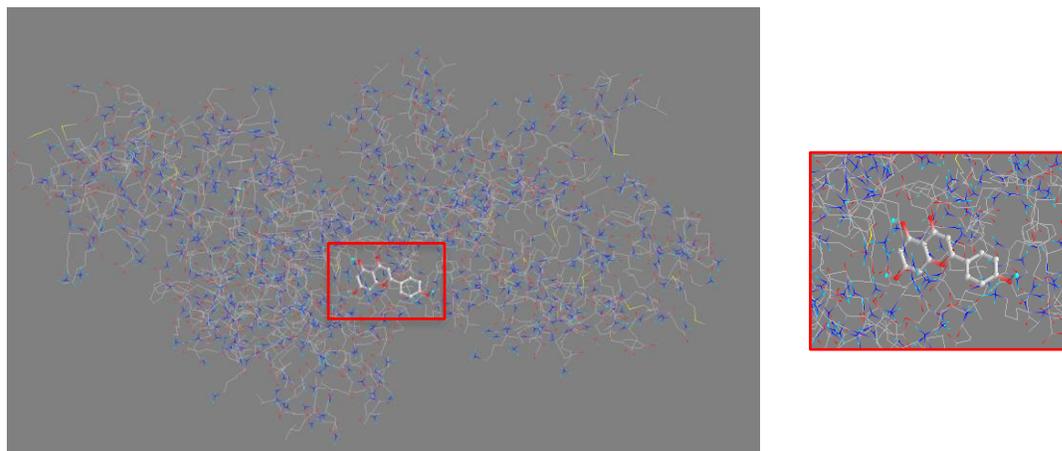
**Tabla 9. Valores de energía libre para las interacciones ligando-proteína predichas por DockingServer.**

Compuestos fenólicos	Contenido en semillas de haba mg / 100 g, porción comestible, según la USDA	Energía de unión (Kcal/mol)
Ácido cafeico <sup>+</sup>	14.1 a 0.52 mg/100 g peso seco	-7.8
Ácido gálico <sup>^</sup>	1.62 mg/100 g peso seco	-6.0
Luteolina <sup>♀</sup>	0.70 mg/ 100 g, porción comestible	-7.6
Miricetina	2.60 mg/ 100 g, porción comestible	-7.7
Quercetina	2.00 mg/ 100 g, porción comestible	-7.4
Apigenina <sup>*</sup>	16.8 a 0.89 mg/ 100 g, porción comestible	-7.5
Kaempferol <sup>^</sup>	1.26 a 0.91 mg/ 100 g, porción comestible y presencia de numerosos glucósidos	-6.0
Catequina	14.29 mg/ 100 g, porción comestible	-7.7
Epicatequina	28.96 mg/ 100 g, porción comestible	-7.2
Resveratrol <sup>^</sup>	2.9 mg/ 100 g, porción comestible	-6.8

<sup>+</sup> Valente et al., 2018, <sup>^</sup> Kalogeropoulos et al., 2010, <sup>♀</sup> Kwon et al., 2018, <sup>\*</sup> Baginsky et al., 2013.

Como se observa en la tabla número 9, los polifenoles con mayor energía negativa (presentan mayor interacción) de unión hacia PPAR $\gamma$ , como el ácido cafeico, miricetina, catequina y luteolina, con valores de -7.8, -7.7, -7.7 y -7.6 Kcal/mol respectivamente. Sin embargo, todos los polifenoles presentaron una energía de unión a PPAR $\gamma$  mayor a -5 Kcal/mol, lo que significa que todos presentan fuerte interacción hacia PPAR $\gamma$ .

En la figura número 9 se esquematiza el sitio de unión del compuesto fenólico apigenina con la estructura del receptor PPAR $\gamma$ , con una afinidad de -7.5 Kcal/mol.



**Figura 9. Unión de estructura 3D de apigenina con la estructura de PPAR $\gamma$ .**

A continuación, se presentan los glicósidos para cada uno de estos polifenoles y sus energías de unión obtenidas utilizando el método *in silico* mediante un diagnóstico con DockingServer.

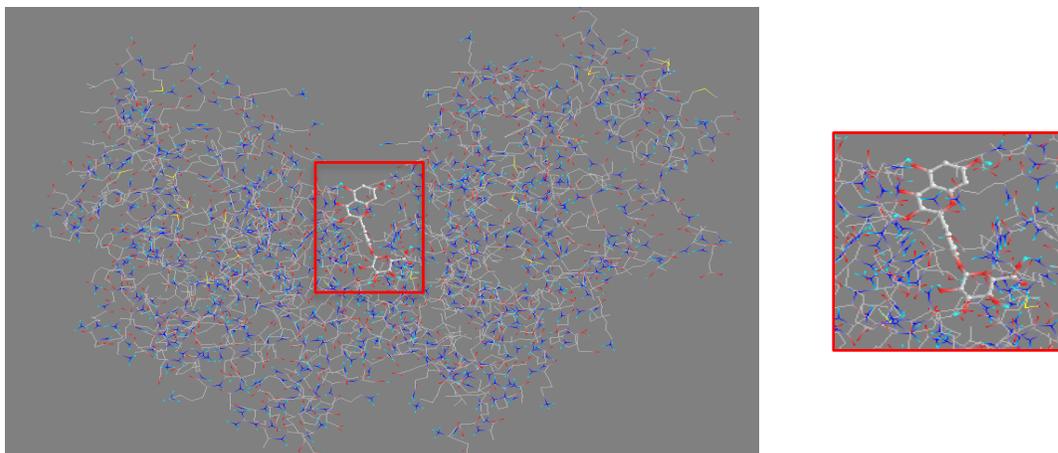
En la tabla número 10, se observa la energía de unión a PPAR $\gamma$  de quercetina y sus glicósidos.

**Tabla 10. Valores de energía libre para las interacciones ligando-proteína predichas por DockingServer (Quercetina y sus glicósidos).**

Quercetina y sus glicósidos	Energía de unión (Kcal/mol)
<b>Aglicona (Quercetina)</b>	<b>-7.4</b>
Quercetin-3-O-glucurónido	-8.0
Quercetin-4-O-glucurónido	-8.1
Quercetin-3-O-sulfato	-7.3
Tamarixetina	-7.5
Isorhamnetina	-7.6
Quercetin-7-O-glucósido	-8.9
Quercetin-3-O-glucósido 7-O-ramnósido	-8.5
Quercetin-3-metil éter 7-glucurónido	-8.4
Quercetin-5-glucósido	-8.3
Quercetin-3-galacturónido	-8.5

Los valores de energía de unión son de hasta -8.9 kcal/mol como lo es en el caso de la Quercetin-7-O-glucósido. La Quercetin-3-O-sulfato es la que presenta menor energía de unión con PPAR $\gamma$  al presentar un valor de -7.3 Kcal/mol.

En la figura número 10 se esquematiza el sitio de unión del metabolito Quercetin-7-O-glucósido con la estructura del receptor PPAR $\gamma$ , siendo el que presenta la mayor afinidad de unión con un valor de -8.9 Kcal/mol.



**Figura 10. Unión de estructura 3D de Quercetin-7-O-glucósido con la estructura de PPAR $\gamma$ .**

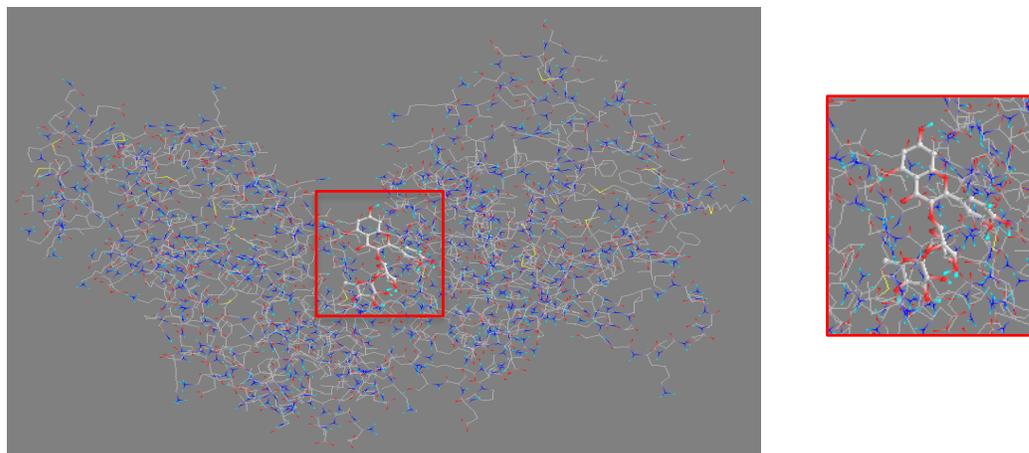
En la tabla número 11, se observa la energía de unión a PPAR $\gamma$  de miricetina y sus glicósidos.

**Tabla 11. Valores de energía libre para las interacciones ligando-proteína predichas por DockingServer (Miricetina y sus glicósidos).**

Miricetina y sus glicósidos	Energía de unión (Kcal/mol)
<b>Aglicona (Miricetina)</b>	<b>-7.7</b>
Miricetin 3-O-ramnósido	-7.3
Miricetin 3-galactósido	-7.6
Miricetin 3-ramnósido	-7.8
Miricetin 3-O-glucurónido	-8.0
Miricetin 3-rutinósido	-9.7
Miricetin 7-O-glucurónido	-9.1
Miricetin 3-O-galactósido	-8.4
Miricetin 5-O-glucurónido	-8.6
Miricetin 7-glucósido	-9.2
Miricetin 3-ramnósido-7-glucósido	-8.8

Como muestra la tabla, Miricetin 3-rutinósido presenta mayor energía de unión hacia PPAR $\gamma$  con un valor de -9.7 Kcal/mol, siendo Miricetin 3-O-ramnósido el que presenta menor energía de unión con PPAR $\gamma$  al tener un valor de -7.3 Kcal/mol.

En la figura número 11 se observa la Miricetin 3-rutinósido y su sitio de unión con PPAR $\gamma$ , presentando una mayor afinidad de unión con un valor de -9.7 Kcal/mol, en comparación con los otros glicósidos de miricetina.



**Figura 11. Unión de estructura 3D de Miricetin 3-rutinósido con la estructura de PPAR $\gamma$ .**

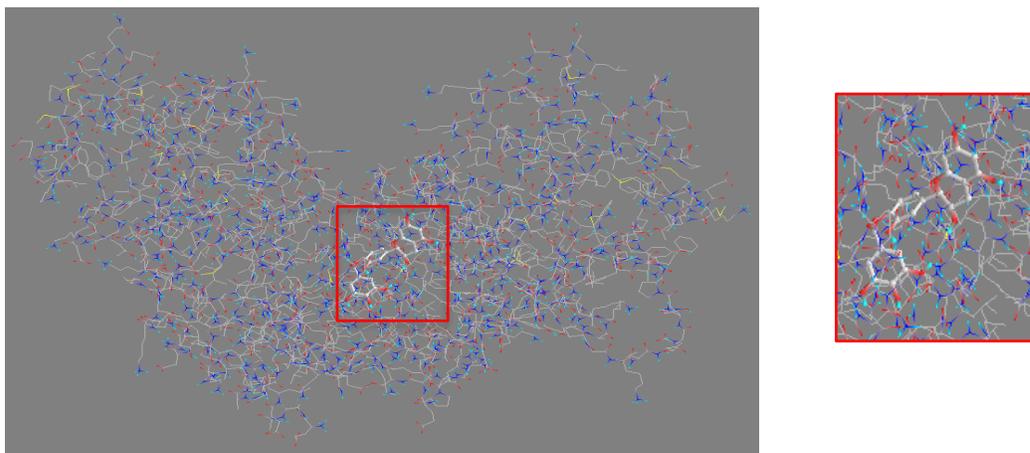
En la tabla número 12, se observa la energía de unión a PPAR $\gamma$  de catequina y sus glicósidos.

**Tabla 12. Valores de energía libre para las interacciones ligando-proteína predichas por DockingServer (Catequina y sus glicósidos).**

Catequina y sus glicósidos	Energía de unión (Kcal/mol)
Aglicona (Catequina)	-7.7
Ácido 4 – hidroxifenolacético	-5.4
Catequin 7-O-galato	-9.3
Catequin 5-O-galato	-9.0
Catequin-7-O-glucósido	-8.7
Catequin 5-glucósido	-7.6
Catequin 3'-O-galato	-8.6
Catequin 4'-O-galato	-9.8
Catequin 3'-glucósido	-8.1
(+)-Catequin 6-C-galactósido	-8.8
(+)-Catequin 6-C-ramnósido	-8.8

Como se observa Catequin 4'-O-galato es el glicósido que presenta mayor energía de unión hacia PPAR $\gamma$  con un valor de -9.8 Kcal/mol, presentando mayor energía de unión que la misma catequina con un valor de -7.7 Kcal/mol.

En la figura número 12 se presenta el sitio de unión de Catequin 4'-O-galato con la estructura del receptor PPAR $\gamma$ .



**Figura 12. Unión de estructura 3D de Catequin 4'-O-galato con la estructura de PPAR $\gamma$ .**

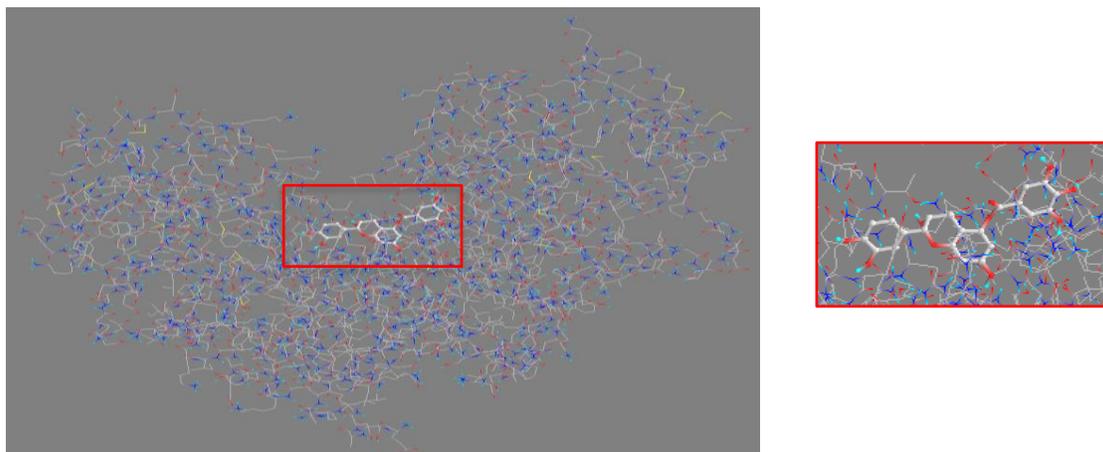
En la tabla número 13, se observa la energía de unión a PPAR $\gamma$  de epicatequina y sus glicósidos.

**Tabla 13. Valores de energía libre para las interacciones de ligando-proteína predichas por DockingServer (Epicatequina y sus glicósidos).**

Epicatequina y sus glicósidos	Energía de unión (Kcal/mol)
<b>Aglicona (Epicatequina)</b>	<b>-7.2</b>
Epicatequin-3'-glucurónido	-8.7
Epicatequin-7-glucurónido	-8.7
Epicatequin-4'-sulfato	-8.5
Epicatequin-3-galato	-7.9
Epicatequin-5-sulfato	-7.7
4'-O-Metil(-)-epicatequin 3'-O-glucurónido	-8.1
Epicatequin-3'-sulfato	-7.9
(-)-Epicatequin-5-galato	-9.0
(-)-Epicatequin-sulfato	-7.0
4'-Metilepicatequin	-7.3
3'-O-Metil(-)-epicatequin 7-O-glucurónido	-8.7
4'-O-Metil(-)-epicatequin-7-O-sulfato	-7.5

Como se observa en la tabla número 13, el metabolito (-)-Epicatequin-5-galato es el que presenta mayor energía de unión hacia PPAR $\gamma$  con un valor de -9.0 Kcal/mol, la epicatequina presento una energía menor con -7.2 Kcal/mol.

En la figura número 13 se puede observar el sitio de unión del metabolito (-)-Epicatequin-5-galato con la estructura del receptor PPAR $\gamma$ .



**Figura 13. Unión de estructura 3D de (-)-Epicatequin-5-galato con la estructura de PPAR $\gamma$ .**

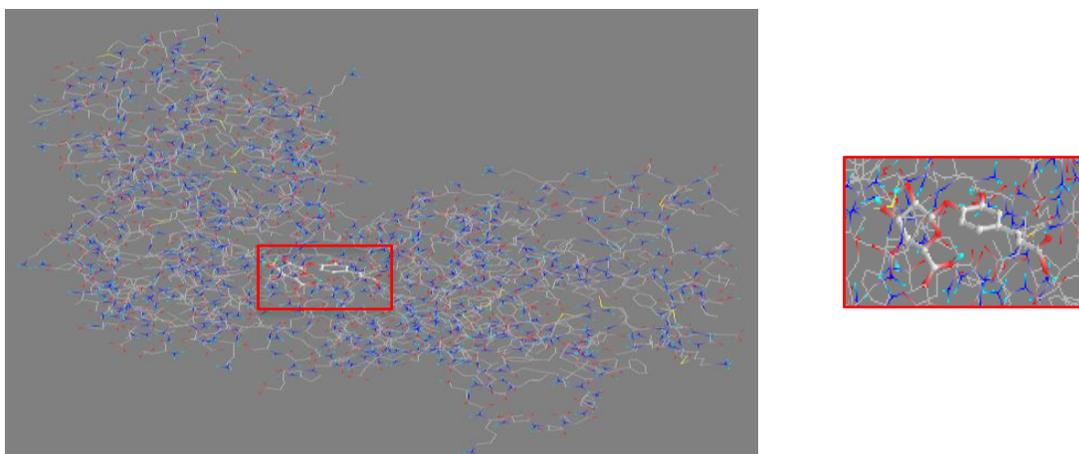
En la tabla número 14, se observa la energía de unión a PPAR $\gamma$  del ácido cafeico y sus glicósidos.

**Tabla 14. Valores de energía libre para las interacciones ligando-proteína predichas por DockingServer (Ácido cafeico y sus glicósidos).**

Ácido cafeico y sus glicósidos	Energía de unión (Kcal/mol)
<b>Aglicona (Ácido cafeico)</b>	<b>-7.8</b>
Ácido cafeico 3-glicósido	-7.1
Ácido cafeico 3-sulfato	-6.6
Ácido cafeico 3-O-glicurónido	-7.4
Ácido cafeico 4-O-glicurónido	-7.8
Ácido cafeico 4-sulfato	-6.6

En la tabla número 14 el Ácido cafeico 4-O-glicurónido es el que presenta mayor energía de unión hacia PPAR $\gamma$  con un valor de -7.8 Kcal/mol, presentando el mismo valor que el ácido cafeico.

En la figura número 14 se esquematiza el sitio de unión del Ácido cafeico 4-O-glicurónido con la estructura del receptor PPAR $\gamma$ .



**Figura 14. Unión de estructura 3D de Ácido cafeico 4-O-glucurónico con la estructura de PPAR $\gamma$ .**

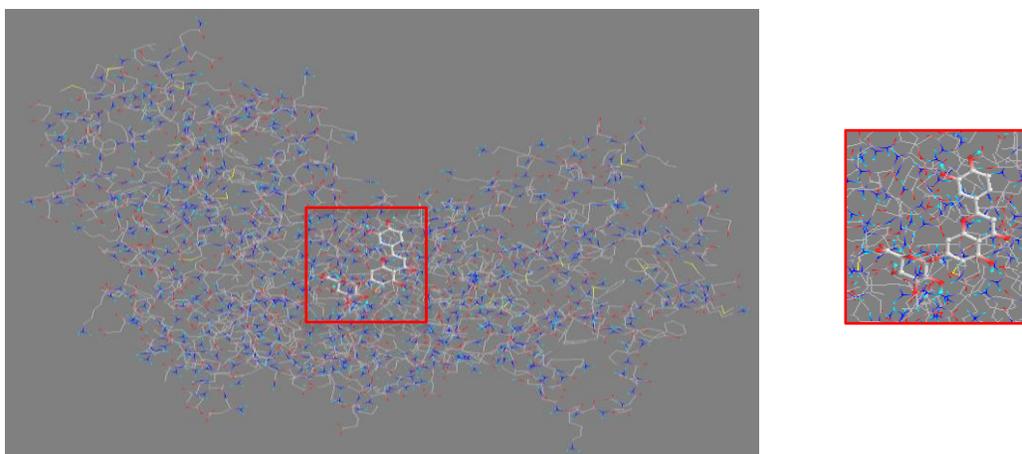
En la tabla número 15, se observa la energía de unión a PPAR $\gamma$  de luteolina y sus glicósidos.

**Tabla 15. Valores de energía libre para las interacciones ligando-proteína predichas por DockingServer (Luteolina y sus glicósidos).**

Luteolina y sus glicósidos	Energía de unión (Kcal/mol)
<b>Aglicona (Luteolina)</b>	<b>-7.6</b>
Luteolin 3'-O-glucurónico	-8.8
Luteolin 7-glucurónico	-9.0
Luteolin 3'-O-glicósido	-8.7
Luteolin 4'-O-glicósido	-8.3
Luteolin 5-glucurónico	-8.4
Luteolin 7-sulfato	-8.2
Luteolin 4'-sulfato	-8.5
Luteolin 3'-metil éter 7-glucurónico	-8.6
Luteolin 4'-metil éter 3'-sulfato	-8.0
Luteolin 7-rutinósido-4'-glicósido	-8.7

Como se muestra en la tabla número 15, los valores de energía de unión son de hasta -9.0 Kcal/mol como lo es en el caso de la Luteolin 7-glucurónico, presentando mayor energía de unión que la misma luteolina.

En la figura número 15 se esquematiza el sitio de unión de la Luteolin 7-glucurónico con la estructura del receptor PPAR $\gamma$ .



**Figura 15. Unión de estructura 3D de Luteolin 7-glucurónico con la estructura de PPAR $\gamma$ .**

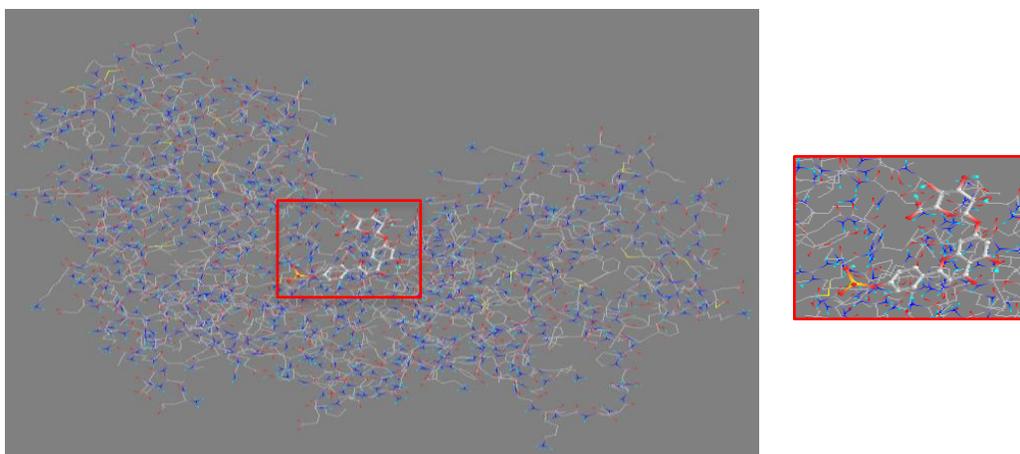
En la tabla número 16, se observa la energía de unión a PPAR $\gamma$  de la apigenina y sus glicósidos.

**Tabla 16. Valores de energía libre para las interacciones ligando-proteína predichas por DockingServer (Apigenina y sus glicósidos).**

Apigenina y sus glicósidos	Energía de unión (Kcal/mol)
<b>Aglicona (Apigenina)</b>	<b>-7.5</b>
Apigenin 4'-glucósido	-8.2
Apigenin 7-O-beta-D-glucósido	-9.2
Apigenin 7-glucurónico	-8.9
Apigenin 7-sulfato	-8.2
Apigenin 5-glucósido	-8.1
Apigenin 4'-glucurónico	-8.2
Apigenin 7-O-glucósido	-8.9
Apigenin 7-galactósido	-9.1
Apigenin 5-galactósido	-7.9
Apigenin 4'-sulfato 7-glucurónico	-9.6

En la tabla 16, los valores de energía de unión son de hasta -9.6 Kcal/mol como lo es en el caso de la Apigenin 4'-sulfato 7-glucurónico, presentando -2.1 Kcal/mol más de energía de unión que la Apigenina.

En la figura número 16 se presenta el sitio de unión de Apigenin 4'-sulfato 7-glucurónico con la estructura del receptor PPAR $\gamma$ .



**Figura 16. Unión de estructura 3D de Apigenin 4'-sulfato 7-glucurónico con la estructura de PPAR $\gamma$ .**

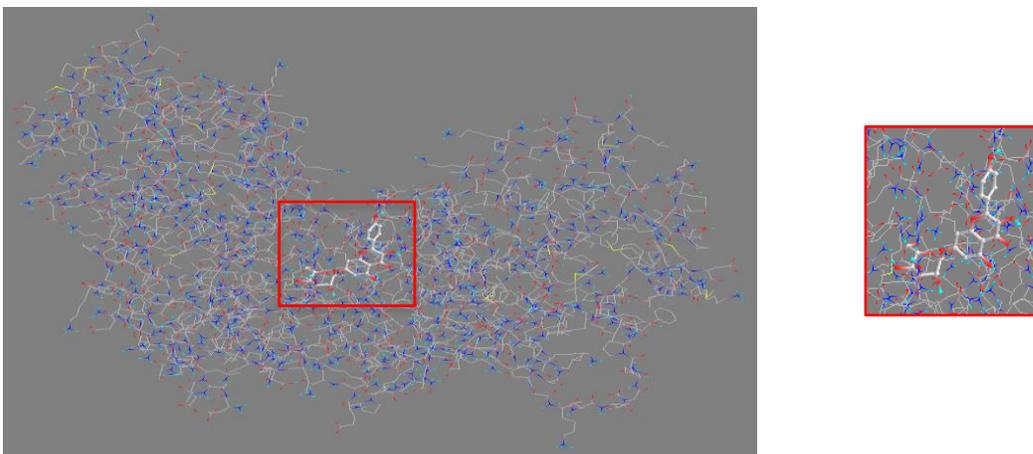
En la tabla número 17, se observa la energía de unión a PPAR $\gamma$  del kaempferol y sus glicósidos.

**Tabla 17. Valores de energía libre para las interacciones ligando-proteína predichas por DockingServer (Kaempferol y sus glicósidos).**

<b>Kaempferol y sus glicósidos</b>	<b>Energía de unión (Kcal/mol)</b>
<b>Aglicona (Kaempferol)</b>	<b>-6.0</b>
Kaempferol-3-O-glucurónico	-8.4
Kaempferol 7-O-glicósido	-8.3
Kaempferol 7-O-glucurónico	-8.6
Kaempferol 3-glucurónico	-7.9
Kaempferol-3-O-galactósido	-7.4
Kaempferol 5-O-glucurónico	-8.3
Kaempferol 3-O-sulfato	-7.2
Kaempferol 3-glucurónico-7-sulfato	-8.2
Kaempferol 3-glicósido-7-galactósido	-8.3
Kaempferol 7-galactósido	-9.0

Como se observa en la tabla número 17, el Kaempferol 7-galactósido es el glicósido que presento mayor energía de unión con el receptor PPAR $\gamma$  con un valor de -9.0 Kcal/mol, con -3.0 Kcal/mol más de energía de unión que el propio kaempferol.

En la figura número 17 se esquematiza el sitio de unión de Kaempferol 7-galactosido con la estructura del receptor PPAR $\gamma$ .



**Figura 17. Unión de estructura 3D de Kaempferol 7-galactósido con la estructura de PPAR $\gamma$ .**

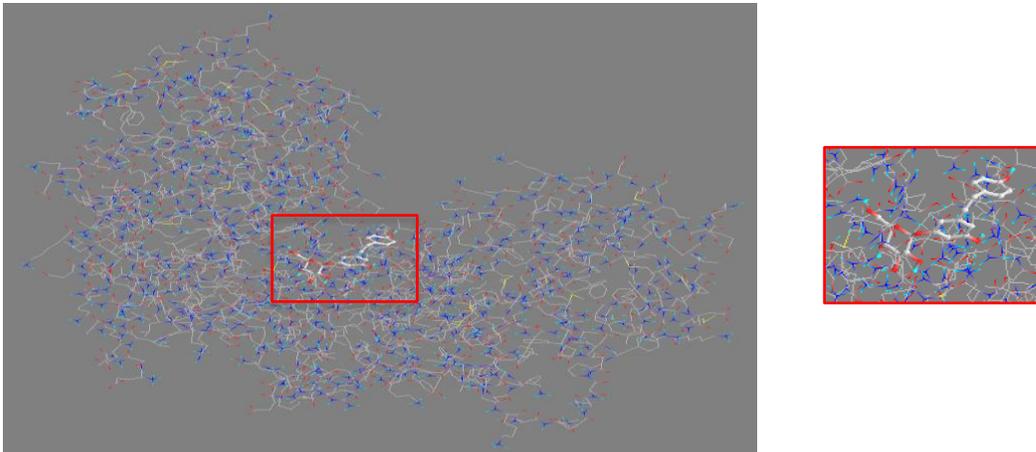
En la tabla número 18, se observa la energía de unión a PPAR $\gamma$  del resveratrol y sus glicósidos.

**Tabla 18. Valores de energía libre para las interacciones ligando-proteína predichas por DockingServer (Resveratrol y sus glicósidos).**

Resveratrol y sus glicósidos	Energía de unión (Kcal/mol)
<b>Aglicona (Resveratrol)</b>	<b>-6.8</b>
Resveratrol-3-O-sulfato	-7.5
Resveratrol-4'-O-glucurónido	-8.1
Resveratrol 4-glicósido	-7.9
Cis-Resveratrol 3-O-glucurónido	-8.2
Trans-Resveratrol-3,5-disulfato	-7.6
Trans-Resveratrol 3-O-b-D-glucurónido	-8.2
Cis-Resveratrol 4'-O-beta-D-glucurónido	-8.0
Resveratrol-3,4'-disulfato	-7.8
Trans-Resveratrol-3-O-beta-glicósido	-7.9
Resveratrol 3-glicósido	-8.1

En la tabla anterior se observa que los valores de energía de unión son de hasta -8.2 Kcal/mol, como es en el caso del Trans-resveratrol 3-O-b-D-glucurónido y de Cis-resveratrol 3-O-glucurónido, siendo los que presentan mayor interacción con el receptor PPAR $\gamma$ .

En la figura número 18 se presenta el sitio de unión del Cis-resveratrol 3-O-glucurónido con la estructura del receptor PPAR $\gamma$ .



**Figura 18. Unión de estructura 3D de Cis-resveratrol 3-O-glucurónico con la estructura de PPAR $\gamma$ .**

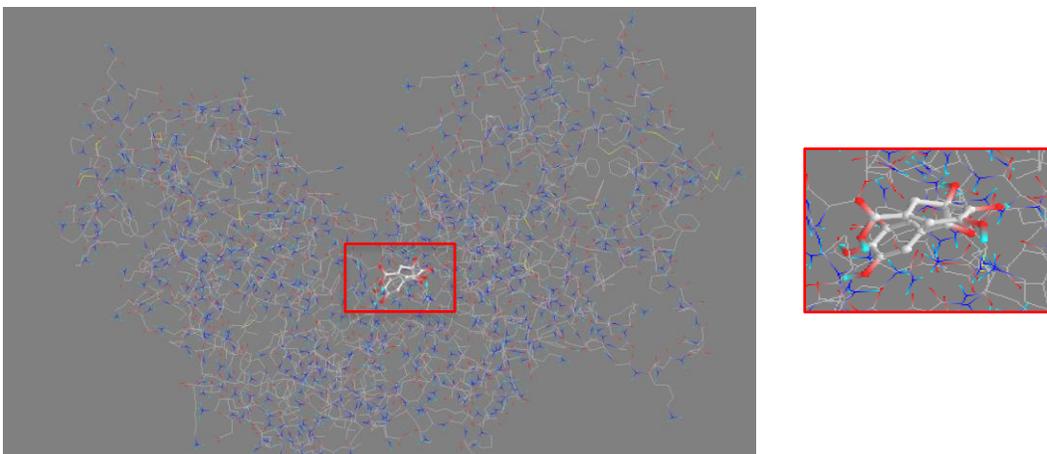
En la tabla número 19, se observa la energía de unión a PPAR $\gamma$  del ácido gálico y sus glicósidos.

**Tabla 19. Valores de energía libre para las interacciones ligando-proteína predichas por DockingServer (Ácido gálico y sus glicósidos).**

Ácido gálico y sus glicósidos	Energía de unión (Kcal/mol)
<b>Aglicona (Ácido gálico)</b>	<b>-6.0</b>
Ácido gálico trisulfato	-6.8
Ácido gálico presulfato	-6.9
Ácido gálico 4-éster hidroxifenético	-7.0
Ácido gálico propil	-6.3
Ácido gálico 3-galoil	-7.0

En la tabla número 19 los valores de energía de unión de los glicósidos son de hasta -7.0 Kcal/mol como lo es en el caso del Ácido gálico 4-éster hidroxifenético y ácido gálico 3-galoil, los cuales presentan mayor energía de unión que la misma aglicona con -6.0 Kcal/mol.

En la figura número 19 se esquematiza el sitio de unión del metabolito Ácido gálico 3-galoil con la estructura del receptor PPAR $\gamma$ .



**Figura 19. Unión de estructura 3D de Ácido gálico 3-galoil con la estructura de PPAR $\gamma$ .**

## **VIII. DISCUSIÓN**

### **8.1 Rendimiento de extractos de germinados de haba (*Vicia faba* L.)**

El rendimiento de los extractos de germinados de haba en este estudio va del 17.80% como el menor rendimiento que se obtuvo, hasta el 25.93%, siendo el rendimiento de mayor porcentaje. De acuerdo con otros estudios como el de Do y colaboradores (2014) y Navarro del Hierro y colaboradores (2018), el rendimiento de los extractos mejoró de acuerdo con la cantidad de agua que se utilizó, observándose que, a mayor agua, mayor rendimiento del extracto; sin embargo, extractos con mayor etanol mostraron mayor actividad antioxidante y mayor contenido de polifenoles, teniendo un mayor rendimiento con acetona/agua (50:50). En los extractos obtenidos en este estudio, se utilizaron metanol/agua (50:50) y acetona/agua (70:30) como solventes, de acuerdo con la metodología establecida. Puede ser que por esta razón se presentara poca variación en el rendimiento de los extractos de los distintos días de germinación (Do et al., 2014; Navarro del Hierro et al., 2018).

El rendimiento de los extractos etanol/agua en el estudio de (Navarro del Hierro et al., 2018) fueron menores en comparación con nuestro estudio, sin embargo, el extracto con agua en soya presentó mayor rendimiento en comparación con nuestro estudio. En el caso del estudio de Do y colaboradores (2014), los extractos

50/50 y 75/25 de etanol/agua y 50/50 y 75/25 de acetona/agua presentaron mayor rendimiento en comparación con nuestro estudio.

El estudio de Navarro del Hierro y colaboradores (2018), evaluó el rendimiento de distintas leguminosas en extractos con distintos solventes, se observó que la soya presentó un mayor rendimiento en el extracto que se realizó solamente con agua, con etanol/agua y solo con etanol, quizá sea debido a la alta concentración de fosfolípidos en esta leguminosa. El extracto en soya con etanol como solvente fue el que presentó mayor contenido de compuestos fenólicos, en el caso de las lentejas el extracto con etanol/agua fue el que presentó mayor contenido. Estos resultados, se relacionan con los de este estudio y como se observa puede existir diferencia de acuerdo con el tipo de leguminosa que se está utilizando y a la proporción de agliconas y compuestos fenólicos conjugados por la diferencia de solubilidad.

## **8.2 Polifenoles totales de extractos de germinados de haba (*Vicia faba L.*)**

Se encontraron similitudes en el contenido de compuestos fenólicos presentes conforme a los días de germinación en distintas variedades de leguminosas. En un estudio elaborado por Saleh y colaboradores (2019), se observó un comportamiento similar, al presentar un incremento constante en flavonoides y fenoles, como el ácido gálico y quercetina, manteniendo un incremento constante conforme a los días de germinación, siendo el día 6 el que presentó un mayor contenido de compuestos fenólicos en comparación con los demás días.

Un estudio elaborado por Baginsky y colaboradores (2013), evaluó el contenido de compuestos fenólicos en distintas variedades de habas cultivadas en Chile, el contenido total de compuestos fenólicos osciló entre 817 y 1337 mg equivalente de ácido gálico por Kilogramo en habas no germinados. En comparación con nuestro estudio, las habas en el día 0 de germinación presentaron una concentración de 793 mg equivalente de ácido gálico por litro de extracto, presentando una similitud con el rango inicial presentado en las habas cultivadas en Chile.

En otro estudio elaborado por Mekky y colaboradores (2020), se realizó una comparación del contenido de compuestos fenólicos totales de 3 distintos cultivos

de habas sin germinar y con 8 días de germinación. Los germinados de haba Nuburia presentaron un incremento 4 veces mayor a las habas sin germinar; en el caso de los germinados de haba Giza presentaron un incremento 3 veces mayor y en el caso de los germinados de haba Sakha un incremento del doble en comparación con las habas sin germinar. En nuestro estudio los germinados de haba al día 6, presentaron un incremento del doble en el contenido de compuestos fenólicos totales en comparación con las habas sin germinar.

Aunque las leguminosas y sus compuestos fenólicos han sido ampliamente estudiados, en el caso del haba germinada hay poca información en la literatura científica. Por lo tanto, además de comparar el contenido de compuestos fenólicos presentes en haba y haba germinada, también se compara el contenido de polifenoles totales en distintos tipos de germinados de leguminosas comerciales.

De acuerdo con (Aguilera et al., 2013) leguminosas como el chícharo de vaca, frijol Jack, Dolichos y Mucuna presentaron una concentración mayor de compuestos fenólicos una vez que pasaron por un proceso de germinación. El chícharo de vaca paso de una concentración de 3.30 mg Equivalentes de ácido gálico/ gramo en peso seco a 3.70 mg GAE/g, el frijol Jack de 2.30 mg GAE/g a 3.60 mg GAE/g, Dolichos de 0.72 mg GAE/g a 1.70 mg GAE/g y Mucuna de 37.40 mg GAE/g a 46.30 mg GAE/g. Con esto se observa que el proceso de germinación en estas leguminosas también generó un incremento en el contenido de polifenoles.

En otro estudio realizado por (Memilla & Mishra, 2017) se observó el incremento en el contenido de polifenoles de distintas leguminosas, como lo es el caso de la soya con un contenido de 1.5 mg GAE/g peso seco sin germinación y después del proceso de germinación de 2.4 mg GAE/g, en chícharo se presentó un aumento de 0.52 mg GAE/g a 1.0 mg GAE/g, en el caso del frijol mungo con un aumento en la cantidad de polifenoles de 1.0 mg GAE/g a 2.5 mg GAE/g y por último en lenteja roja se presentó un aumento de 0.4 mg GAE/g a 1.8 mg GAE/g.

### **8.3 Actividad antioxidante (DPPH) de extractos de germinados de haba (*Vicia faba* L.)**

Se ha relacionado con el contenido total de polifenoles, debido a que el proceso de germinación genera un aumento de polifenoles totales, junto con la actividad antioxidante (Khang et al., 2016). La actividad antioxidante de los polifenoles presentes en alimentos como las leguminosas se han considerado como el principal mecanismo de acción de los polifenoles (Cipolletti, M., Solar-Fernandez, V., Montalesi, E., Marino, M., & Fiocchetti, M, 2018).

Un estudio elaborado por (Okumura, K., Hosoya, T., Kawarazaki, K., Izawa, N., & Kumazawa, S, 2016) evaluó la actividad antioxidante de compuestos fenólicos presentes en germinados de haba en comparación con habas sin germinar y vegetales germinados como brócoli, repollo rojo y rábano blanco. De acuerdo con los resultados obtenidos la actividad antioxidante de los germinados de haba es mayor que la que presentaron el haba sin germinar y los germinados de vegetales, siendo 7 veces mayor a la presentada por el haba sin germinar.

En otro estudio elaborado por (Mekky y colaboradores (2020) se realizó una comparación de la actividad de captación de radicales libres por método DPPH de 3 distintos cultivos de habas sin germinar y con 8 días de germinación. Todos los germinados presentaron una actividad de eliminación de radicales libres (actividad antioxidante) mayor en comparación con las habas sin germinar. Los germinados de haba Nubaria presentaron la mayor capacidad con un 77.7% de inhibición, los germinados de haba Sakha un 70.9% y los germinados de haba Giza un 62.3%. Lo cual está relacionado con el aumento de compuestos fenólicos en los germinados de haba dentro del estudio.

Estudios como los que se presentan a continuación han evaluado el contenido de actividad antioxidante en distintos tipos de germinados de leguminosas, por lo que es relevante compararlas con los resultados obtenidos en los germinados de haba.

Un estudio elaborado por (Tarasevičienė et al., 2019) evaluó la actividad antioxidante por DPPH en leguminosas como chícharo y lentejas. En el caso de las lentejas se presentó un incremento en la actividad antioxidante del día 0 al día 1 de germinación, sin embargo, se presentó una disminución en el día 3. En el caso de

las lentejas se presentó un incremento de casi el 400% del día 0 al día 1 de germinación, con un incremento en el día 3 y una disminución al día 5. Se encuentra relación con los resultados obtenidos en este estudio al observar un incremento constante en la actividad antioxidante en los primeros 3 días de germinación, disminuyendo alrededor del día 4 o 6.

En otro estudio Kapravelou y colaboradores (2020) se llevó a cabo el proceso de germinación en semillas de frijol mungo durante un periodo de 4 días, se distribuyeron en bandejas sobre hojas de papel de filtro y se dejaron a oscuras a una temperatura de 30°C, no se presentó un cambio significativo en la capacidad antioxidante de los mismos, del día 0 al día 3 se presentó un incremento, sin embargo, no fue significativo ( $p > 0.05$ ). Otro estudio realizado por (Khang et al., 2016) evaluó la capacidad antioxidante de distintos tipos de leguminosas germinadas como la soya, frijol negro, frijol mungo, frijol adzuki y también cacahuates evaluados mediante el método DPPH. Las leguminosas se dejaron germinar durante 5 días, los cacahuates presentaron la mayor capacidad antioxidante de 32.51% siendo significativamente diferente de los demás ( $p < 0.05$ ) y los frijoles negros presentaron el menor incremento con solo un 7.44%.

De acuerdo con distintos estudios y el nuestro, se ha observado que se genera un aumento en la capacidad antioxidante de los germinados de leguminosas en los primeros días de germinación, sin embargo, en casi todos los germinados se presenta una disminución de la capacidad antioxidante al quinto día, lo cual podría estar relacionado con diferencias cualitativas y cuantitativas en el contenido de compuestos fenólicos en las leguminosas (Tarasevičienė et al., 2019).

#### **8.4 Método *in silico* para la determinación de la actividad sobre adipogénesis**

Un estudio elaborado por (Encinar, J. A., Fernández-Ballester, G. J., Galiano-Ibarra, V., & Micol-Molina, V, 2015) evaluó mediante un análisis *in silico* el efecto de compuestos fenólicos de origen vegetal como moduladores del receptor PPAR $\gamma$ . Se observaron valores de energía de unión que van desde -10 a -11.4 Kcal/mol. Genisteína presentó valores de -8.8 Kcal/mol, resveratrol de -7.5 Kcal/mol, quercetina y kaempferol de -8.0 Kcal/mol, presentando una fuerza de unión

considerable. En nuestro estudio y el estudio de (Encinar, J. A., Fernández-Ballester, G. J., Galiano-Ibarra, V., & Micol-Molina, V, 2015) los valores de energía de unión fueron menores a -5 Kcal/mol, por lo que presentan una fuerte fuerza de unión al receptor PPAR $\gamma$ .

Otro estudio *in silico* elaborado por Aranaz y colaboradores, (2019), donde con el mismo método evaluaron los valores de energía libre de unión de una variedad de compuestos fenólicos con el receptor PPAR $\gamma$ . Los valores obtenidos van desde -3.16 Kcal/mol en el caso de la hesperidina, -5.07 Kcal/mol en quercetina y el valor más alto en troglitazona con -7.23 Kcal/mol. En comparación con nuestro estudio los valores obtenidos presentaron una mayor afinidad al receptor PPAR $\gamma$  con valores de energía de unión menores a -5 Kcal/mol.

A su vez Prabhu & Rajeswari, (2018) realizó un análisis *in silico* con el cual evaluó la afinidad de unión al receptor PPAR $\gamma$  de compuestos fenólicos como la apigenina, quercetina, miricetina y catequina con valores de energía de unión de -8.7, -8.6, -8.6 y -8.2 Kcal/mol, respectivamente, presentando un efecto inhibitorio de la adipogénesis. En comparación con nuestro estudio los valores de energía de unión por parte de la apigenina, quercetina, miricetina y catequina fueron -7.5, -7.4, -7.7, -7.7 Kcal/mol, respectivamente. Presentando mayor afinidad los compuestos analizados por Prabhu & Rajeswari, (2018) en comparación con los compuestos analizados en nuestro estudio.

Los valores de energía de unión de quercetina al receptor PPAR $\gamma$  obtenidos en el estudio de Aranaz y colaboradores, (2019) fueron de -5.07 Kcal/mol y presentaron una diferencia de -2.93 Kcal/mol en comparación con los resultados obtenidos en el estudio de (Encinar et al, 2015) con -8 Kcal/mol, presentando una menor afinidad al receptor PPAR $\gamma$  por parte de la quercetina evaluada en el estudio de Aranaz y colaboradores, (2019). Nuestro estudio presentó una afinidad de unión de -7.4 Kcal/mol teniendo de esta manera una diferencia de 0.6 Kcal/mol respecto al estudio de (Encinar, J. A., Fernández-Ballester, G. J., Galiano-Ibarra, V., & Micol-Molina, V, 2015) desplegando de esta manera una mayor afinidad al receptor PPAR $\gamma$  en dicho estudio (Encinar, J. A., Fernández-Ballester, G. J., Galiano-Ibarra, V., & Micol-Molina, V, 2015). Sin embargo, el estudio de Prabhu & Rajeswari, (2018)

fue el que presentó resultados con mayor afinidad por parte de la quercetina al receptor PPAR $\gamma$  con una afinidad de unión de -8.6 Kcal/mol y por ende un posible efecto antiadipogénico mayor. Los valores obtenidos de quercetina fueron distintos en cada estudio, esto puede variar por la versión del programa que se utilizó, en nuestro caso se utilizó el mismo programa que en Aranaz y colaboradores, (2019), sin embargo, el programa AutoDock tools se utilizó por medio de otro programa el cual fue PyRx, esto pudo generar una mayor precisión de la afinidad y generar un resultado distinto.

La metodología utilizada en este estudio se basó en la utilizada por Aranaz y colaboradores, (2019), se empleó la misma estructura tridimensional de PPAR $\gamma$  la cual se encuentra en la secuencia 1PRG y se obtuvo por medio del Protein Data Bank (PDB), en cambio en el estudio de (Encinar, J. A., Fernández-Ballester, G. J., Galiano-Ibarra, V., & Micol-Molina, V, 2015) se utilizó la estructura de hPPAR $\gamma$  sin especificar en que secuencia se encuentra también se obtuvo por medio del PDB y en el estudio de Prabhu & Rajeswari, (2018), se utilizó la estructura molecular de PPAR $\gamma$  (3V9V) recuperada del PDB.

Las estructuras 3D de los compuestos fenólicos utilizados en nuestro estudio se obtuvieron de la base de datos de PubChem en formato SDF, de la misma manera se obtuvieron por parte de Aranaz y colaboradores, (2019), y Prabhu & Rajeswari, (2018), solo en el caso de (Encinar, J. A., Fernández-Ballester, G. J., Galiano-Ibarra, V., & Micol-Molina, V, 2015) se obtuvieron las estructuras en 2D en formato SDF de la base de datos de Phenol Explorer 3.6.

Una vez obtenidas las estructuras de los compuestos fenólicos en formato SDF se transformaron a formato MOL2 por medio del programa Avogadro para poder ser utilizadas para el acoplamiento molecular, en Aranaz y colaboradores, (2019), se utilizó el programa Openbabel para cambiar el formato de SDF a MOL2 de las estructuras de los compuestos, (Encinar, J. A., Fernández-Ballester, G. J., Galiano-Ibarra, V., & Micol-Molina, V, 2015) utilizó el programa Marvin Suite 6.0 de ChemAxon para convertir las estructuras SDF 2D en estructuras 3D formato mol2, Prabhu & Rajeswari, (2018), no especifica este dato.

Para realizar el acoplamiento molecular en este estudio se utilizó el programa PyRx que utiliza una gran cantidad de programas de código abierto como el programa AutoDock Vina, donde se realizó el acoplamiento, en cambio Aranaz y colaboradores, (2019), calculó el acoplamiento molecular utilizando DockingServer ([www.dockingserver.com](http://www.dockingserver.com)) que permite realizar un acoplamiento molecular utilizando herramientas de AutoDock. Prabhu & Rajeswari, (2018), utilizó el programa de código abierto AutoDock vina en el sistema operativo Linux, y (Encinar, J. A., Fernández-Ballester, G. J., Galiano-Ibarra, V., & Micol-Molina, V, 2015) empleo Autodock Vina el cual se configuro en un clúster de Linux bajo la distribución ROCKS 6.1.

Las diferencias presentadas en las metodologías de los distintos estudios son factores para presentar una variación en la energía de unión que presentaron los compuestos fenólicos hacia el receptor PPAR $\gamma$ . En especial en la estructura tridimensional de PPAR $\gamma$  utilizada y en los programas que se utilizaron para realizar el acoplamiento molecular.

En nuestro estudio, además de evaluar la afinidad de unión de los compuestos fenólicos, también se evaluó la afinidad de unión de glicósidos (metabolitos de digestión) de éstos, con el receptor PPAR $\gamma$ , con el fin de evaluar a los compuestos que putativamente, estarían produciéndose a partir de la digestión intestinal. Un estudio elaborado por Damián-Medina y colaboradores, (2020) evaluó la fuerza de unión de compuestos fenólicos y metabolitos con distintos receptores como PPAR $\gamma$ . Uno de los metabolitos evaluados fue miricetin 3-O-glucósido, el cual presentó una afinidad de unión de +2.12 Kcal/mol, en comparación con nuestro estudio, obtuvimos valores de -7.6 Kcal/mol para miricetin 3-galactósido, de -8.0 Kcal/mol para miricetin 3-O-glucurónido y de -8.4 para miricetin 3-O-galactósido, de esta manera los metabolitos de miricetina evaluados en nuestro estudio presentaron una considerable mayor afinidad de unión al receptor PPAR $\gamma$ . En el mismo estudio de Damián-Medina y colaboradores, (2020), se evaluaron metabolitos de quercetina como quercetin 3-O rutinósido con un valor de energía de unión de -1.95 Kcal/mol y quercetin 3-O-glucósido con un valor de energía de unión de +26.43 Kcal/mol, presentando una muy baja afinidad de unión a PPAR $\gamma$ . En nuestro estudio se

obtuvieron resultados del metabolito quercetin-7-O-glucósido con una afinidad de unión de -8.9 Kcal/mol y quercetin-3-O-glucósido 7-O-ramnósido con -8.5 Kcal/mol, por lo que los valores presentados en éste presentaron una mayor afinidad de unión al receptor PPAR $\gamma$ .

Por último, Grzelczyk y colaboradores, (2020) evaluó la afinidad de compuestos fenólicos y sus metabolitos de digestión con el receptor PPAR $\gamma$ , se obtuvo como resultado que metabolitos como el ácido 3-O'Cafeoilquínico, el ácido 5-Cafeoilquínico y el ácido 4-O'Cafeoilquínico presentaron afinidad de -9.3, -8.2 y -8.7 Kcal/mol hacia PPAR $\gamma$ , respectivamente. Se puede observar que la mayoría de los glicósidos mencionados presentan una alta afinidad de unión al receptor PPAR $\gamma$  y en mucho de los casos, mayores a la presentada por parte de los compuestos fenólicos precursores, como es el caso en nuestro estudio.

## IX. CONCLUSIÓN

De acuerdo con los resultados obtenidos, se puede concluir que el llevar a cabo un proceso de germinación en habas (*Vicia faba L.*) incrementa el contenido de compuestos fenólicos totales, siendo el 6to día de germinación el de mayor concentración de estos, duplicando la concentración respecto al día 0 de germinación.

En el análisis de actividad antioxidante, también se presentó un aumento constante conforme a los días de germinación hasta el día 4, sin embargo, las diferencias entre los días de germinación no fueron estadísticamente significativas.

En el análisis *in silico* se predijo la posible actividad antiadipogénica que presentan los compuestos fenólicos presentes en germinados de haba, así como sus glicósidos. Los resultados sugieren que los compuestos fenólicos y sus glicósidos pueden ser potentes agentes antiadipogénicos al presentar una afinidad de unión  $\leq -5$  Kcal/mol con el receptor PPAR $\gamma$ , siendo mayor la afinidad de unión presentada por parte de los metabolitos.

Sin embargo, es necesario realizar más estudios para evaluar la eficacia de los compuestos fenólicos presentes en germinados de haba, así como sus glicósidos como agonista de PPAR $\gamma$ , por lo que escalar su estudio a nivel *in vitro* sería crucial para la comprobación de esta actividad antiadipogénica.

## X. BIBLIOGRAFÍA

- Aguilera, Y., Cuadrado, C., & Mart, M. (2013). Changes in Nonnutritional Factors and Antioxidant Activity during Germination of Nonconventional Legumes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 6.
- Aguilera, Y., Liébana, R., Herrera, T., Rebollo-Hernanz, M., Sanchez-Puelles, C., Benítez, V., & Martín-Cabrejas, M. A. (2014). Effect of Illumination on the Content of Melatonin, Phenolic Compounds, and Antioxidant Activity During Germination of Lentils (*Lens culinaris* L.) and Kidney Beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(44), 10736-10743.  
<https://doi.org/10.1021/jf503613w>
- Aranaz, P., Navarro-Herrera, D., Zabala, M., Miguéliz, I., Romo-Hualde, A., López-Yoldi, M., Martínez, J., Vizmanos, J., Milagro, F., & González-Navarro, C. (2019). Phenolic Compounds Inhibit 3T3-L1 Adipogenesis Depending on the Stage of Differentiation and Their Binding Affinity to PPAR $\gamma$ . *Molecules*, 24(6), 1045.  
<https://doi.org/10.3390/molecules24061045>
- Arranz-Martínez, S. (2010). Compuestos polifenólicos (extraíbles y no extraíbles) en alimentos de la dieta española: Metodología para su determinación e identificación. Tesis de Doctorado. Universidad Complutense de Madrid, Madrid.
- Ávila, M. H., Dommarco, J. R., Levy, T. S., Nasu, L. C., Acosta, L. M. G., Pineda, E. B. G., Martínez, M. R., Gómez-Humarán, I. M., Hernández, P. S., Hernández, S. V., Gutiérrez, J. P., Arcos, M. A. Á., López, E. R. M., Domínguez, J. M., & López, D. E. G. (2016). *Responsables de la ENSANUT MC 2016*. 149.
- Baginsky, C., Peña-Neira, Á., Cáceres, A., Hernández, T., Estrella, I., Morales, H., & Pertuzé, R. (2013). Phenolic compound composition in immature seeds of fava bean (*Vicia faba* L.) varieties cultivated in Chile. *Journal of Food Composition and Analysis*, 31(1), 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2013.02.003>
- Bhattacharya, A. (2019). Chapter 4—Nitrogen-Use Efficiency Under Changing Climatic Conditions. En A. Bhattacharya (Ed.), *Changing Climate and Resource Use Efficiency in Plants* (pp. 181-240). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816209-5.00004-0>

- Boukhanouf, S., Louaileche, H. & Perrin, D. (2016). Phytochemical content and in vitro antioxidant activity of faba bean (*Vicia faba* L.) as affected by maturity stage and cooking practice. *International Food Research Journal*, 8.
- Bravo, J. A., J. Mauricio Peñarrieta, Tejeda, L., Mollinedo, P., & Vila, J. L. (2015). *PHENOLIC COMPOUNDS IN FOOD*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.5018.1840>
- Burley, S. K., Berman, H. M., Kleywegt, G. J., Markley, J. L., Nakamura, H., & Velankar, S. (2017). Protein Data Bank (PDB): The Single Global Macromolecular Structure Archive. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 1607, 627-641. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7000-1\\_26](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7000-1_26)
- Calles, T. (2016). The international year of pulses: What are they and why are they important? Agriculture for Development - Tropical Agriculture Association, 1–3. <http://www.fao.org/3/a-bl797e.pdf>
- Cevallos-Casals, B. A., & Cisneros-Zevallos, L. (2010). Impact of germination on phenolic content and antioxidant activity of 13 edible seed species. *Food Chemistry*, 119(4), 1485-1490. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.09.030>
- Choudhary, D. K., Chaturvedi, N., Singh, A., & Mishra, A. (2020). Investigation of hypoglycemic effects, oxidative stress potential and xanthine-oxidase activity of polyphenols (gallic acid, catechin) derived from faba bean on 3T3-L1 cell line: Insights into molecular docking and simulation study. *Toxicology Research*, 9(3), 308-322. <https://doi.org/10.1093/toxres/tfaa025>
- Choudhary, D. K., & Mishra, A. (2019). In vitro and in silico interaction of faba bean (*Vicia faba* L.) seed extract with xanthine oxidase and evaluation of antioxidant activity as a therapeutic potential. *Natural Product Research*, 33(18), 2689-2693. <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1460831>
- Cipolletti, M., Solar-Fernandez, V., Montalesi, E., Marino, M., & Fiocchetti, M. (2018). Beyond the Antioxidant Activity of Dietary Polyphenols in Cancer: The Modulation of Estrogen Receptors (ERs) Signaling. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(9), 2624. <https://doi.org/10.3390/ijms19092624>
- Corso, M., Perreau, F., Mouille, G., & Lepiniec, L. (2020). Specialized phenolic compounds in seeds: Structures, functions, and regulations. *Plant Science*, 296, 110471. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110471>

- Dallakyan, S., & Olson, A. J. (2015). Small-Molecule Library Screening by Docking with PyRx. En J. E. Hempel, C. H. Williams, & C. C. Hong (Eds.), *Chemical Biology* (Vol. 1263, pp. 243-250). Springer New York. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2269-7\\_19](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2269-7_19)
- Damián-Medina, K., Salinas-Moreno, Y., Milenkovic, D., Figueroa-Yáñez, L., Marino-Marmolejo, E., Higuera-Ciapara, I., Vallejo-Cardona, A., & Lugo-Cervantes, E. (2020). In silico analysis of antidiabetic potential of phenolic compounds from blue corn (*Zea mays* L.) and black bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Heliyon*, *6*(3), e03632. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03632>
- Djanic, M., Pavlovic, N., Stanimirov, B., Stojancevic, T., Golocorbin-Kon, S., Bojic, G., & Mikov, M. (2016). *Docking-based preliminary study on the interactions of bile acids with drugs at the transporter level in intestinal bacteria*. 9.
- Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y.-H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, *22*(3), 296-302. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2013.11.001>
- Encinar, J. A., Fernández-Ballester, G. J., Galiano-Ibarra, V., & Micol-Molina, V. (2015). In silico approach for the discovery of new PPAR $\gamma$  modulators among plant-derived polyphenols. *Drug Design, Development and Therapy*, 5877. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S93449>
- Fouad, M., Mohammed, N., Aladdin, H., Ahmed, A., Xuxiao, Z., Shiyong, B., & Tao, Y. (2013). 5—Faba Bean. En M. Singh, H. D. Upadhyaya, & I. S. Bisht (Eds.), *Genetic and Genomic Resources of Grain Legume Improvement* (pp. 113-136). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397935-3.00005-0>
- Gan, R.-Y., Lui, W.-Y., Wu, K., Chan, C.-L., Dai, S.-H., Sui, Z.-Q., & Corke, H. (2017). Bioactive compounds and bioactivities of germinated edible seeds and sprouts: An updated review. *Trends in Food Science & Technology*, *59*, 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.11.010>
- Ganesan, K., & Xu, B. (2017). Polyphenol-Rich Dry Common Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and Their Health Benefits. *International Journal of Molecular Sciences*, *18*(11), 2331. <https://doi.org/10.3390/ijms18112331>
- Gao, Y., Yao, Y., Zhu, Y., & Ren, G. (2015). Isoflavones in Chickpeas Inhibit Adipocyte

- Differentiation and Prevent Insulin Resistance in 3T3-L1 Cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(44), 9696-9703. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b03957>
- Garcia-Salas, P., Morales-Soto, A., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2010). Phenolic-Compound-Extraction Systems for Fruit and Vegetable Samples. *Molecules*, 15(12), 8813-8826. <https://doi.org/10.3390/molecules15128813>
- Gętek, M., Czech, N., Muc-Wierzgoń, M., Grochowska-Niedworok, E., Kokot, T., & Nowakowska-Zajdel, E. (2014). The Active Role of Leguminous Plant Components in Type 2 Diabetes. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014, 1-12. <https://doi.org/10.1155/2014/293961>
- Grzelczyk, J., Budryn, G., & Pérez-Sánchez, H. (2020). Evaluation of affinity of bioactive isolates from various coffee extracts through binding with PPAR- $\gamma$  with the use of isothermal titration calorimetry and docking simulation to prevent antidiabetic effects. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 142(2), 877-887. <https://doi.org/10.1007/s10973-020-09801-w>
- Guo, X., Li, T., Tang, K., & Liu, R. H. (2012). Effect of Germination on Phytochemical Profiles and Antioxidant Activity of Mung Bean Sprouts (*Vigna radiata*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(44), 11050-11055. <https://doi.org/10.1021/jf304443u>
- Guzmán-Ortiz, F. A., San Martín-Martínez, E., Valverde, M. E., Rodríguez-Aza, Y., Berríos, J. D. J., & Mora-Escobedo, R. (2017). Profile analysis and correlation across phenolic compounds, isoflavones and antioxidant capacity during germination of soybeans (*Glycine max* L.). *CyTA - Journal of Food*, 15(4), 516-524. <https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1302995>
- Hanwell, M. D., Curtis, D. E., Lonie, D. C., Vandermeersch, T., Zurek, E., & Hutchison, G. R. (2012). Avogadro: An advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. *Journal of Cheminformatics*, 4, 17. <https://doi.org/10.1186/1758-2946-4-17>
- Haytowitz, D.B., Wu, X., Bhagwat, S. (2018). USDA Database for the Flavonoid Content of Selected Foods, Release 3.3 U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. Nutrient Data Laboratory Home Page: <http://www.ars.usda.gov/nutrientdata/flav>

- Huang, C.-C., Huang, W.-C., Hou, C.-W., Chi, Y.-W., & Huang, H.-Y. (2014). Effect of Black Soybean Koji Extract on Glucose Utilization and Adipocyte Differentiation in 3T3-L1 Cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(5), 8280-8292. <https://doi.org/10.3390/ijms15058280>
- Instituto Nacional de Salud Pública. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (2020). *Presentación de resultados*. Obtenido de: [https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanut2018/doctos/informes/ensanut\\_2018\\_presentacion\\_resultados.pdf](https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanut2018/doctos/informes/ensanut_2018_presentacion_resultados.pdf)
- Ivey, K. L., Croft, K., Prince, R. L., & Hodgson, J. M. (2016). Comparison of flavonoid intake assessment methods. *Food & Function*, 7(9), 3748-3759. <https://doi.org/10.1039/C4FO00234B>
- Jiménez-Escrig, A., Jiménez-Jiménez, I., Pulido, R., & Saura-Calixto, F. (2001). Antioxidant activity of fresh and processed edible seaweeds: Antioxidant activity of seaweeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(5), 530-534. <https://doi.org/10.1002/jsfa.842>
- Kalogeropoulos, N., Chiou, A., Ioannou, M., Karathanos, V. T., Hassapidou, M., & Andrikopoulos, N. K. (2010). Nutritional evaluation and bioactive microconstituents (phytosterols, tocopherols, polyphenols, triterpenic acids) in cooked dry legumes usually consumed in the Mediterranean countries. *Food Chemistry*, 121(3), 682-690. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.005>
- Kapravelou, G., Martínez, R., Perazzoli, G., Sánchez González, C., Llopis, J., Cantarero, S., Goua, M., Bermano, G., Prados, J., Melguizo, C., Aranda, P., López-Jurado, M., & Porres, J. M. (2020). Germination Improves the Polyphenolic Profile and Functional Value of Mung Bean (*Vigna radiata* L.). *Antioxidants*, 9(8), 746. <https://doi.org/10.3390/antiox9080746>
- Khang, D., Dung, T., Elzaawely, A., & Xuan, T. (2016). Phenolic Profiles and Antioxidant Activity of Germinated Legumes. *Foods*, 5(4), 27. <https://doi.org/10.3390/foods5020027>
- Kwon, S.-J., Kim, D.-G., Kim, J. M., Kang, K.-Y., Lee, M.-K., Hong, M. J., Kim, J.-B., Eom, S. H., Kang, S.-Y., Ha, B.-K., & Ryu, and J. (2018). Phytochemical Compounds and Antioxidant Activity in the Grain of Selected Faba Bean (*Vicia faba*) Genotypes. *Plant Breeding and Biotechnology*, 6(1), 65-73. <https://doi.org/10.9787/PBB.2018.6.1.65>

- Lefterova, M. I., Haakonsson, A. K., Lazar, M. A., & Mandrup, S. (2014). PPAR $\gamma$  and the global map of adipogenesis and beyond. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 25(6), 293-302. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2014.04.001>
- Li, Y., Rong, Y., Bao, L., Nie, B., Ren, G., Zheng, C., Amin, R., Arnold, R. D., Jeganathan, R. B., & Huggins, K. W. (2017). Suppression of adipocyte differentiation and lipid accumulation by stearidonic acid (SDA) in 3T3-L1 cells. *Lipids in Health and Disease*, 16(1), 181. <https://doi.org/10.1186/s12944-017-0574-7>
- López-Contreras, J. J., Zavala-García, F., Urías-Orona, V., Martínez-Ávila, G. C. G., Rojas, R., & Niño-Medina, G. (2015). Chromatic, Phenolic and Antioxidant Properties of Sorghum bicolor Genotypes. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 43(2), 366-370. <https://doi.org/10.15835/nbha4329949>
- Mamilla, R. K., & Mishra, V. K. (2017). Effect of germination on antioxidant and ACE inhibitory activities of legumes. *LWT*, 75, 51-58. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.08.036>
- Mejri, F., Selmi, S., Martins, A., benkhoud, H., Baati, T., Chaabane, H., Njim, L., Serralheiro, M. L. M., Rauter, A. P., & Hosni, K. (2018). Broad bean ( *Vicia faba* L.) pods: A rich source of bioactive ingredients with antimicrobial, antioxidant, enzyme inhibitory, anti-diabetic and health-promoting properties. *Food & Function*, 9(4), 2051-2069. <https://doi.org/10.1039/C8FO00055G>
- Mekky, R. H., Thabet, M. M., Rodríguez-Pérez, C., Elnaggar, D. M. Y., Mahrous, E. A., Segura-Carretero, A., & Abdel-Sattar, E. (2020). Comparative metabolite profiling and antioxidant potentials of seeds and sprouts of three Egyptian cultivars of *Vicia faba* L. *Food Research International*, 136, 109537. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109537>
- Mendez-Sanchez, N. (2013). *Obesidad. Conceptos clínicos y terapéuticos*. 379.
- Moon, J., Do, H.-J., Kim, O. Y., & Shin, M.-J. (2013). Antiobesity effects of quercetin-rich onion peel extract on the differentiation of 3T3-L1 preadipocytes and the adipogenesis in high fat-fed rats. *Food and Chemical Toxicology*, 58, 347-354. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.05.006>
- Morris, G. M., Goodsell, D. S., Pique, M. E., Huey, R., Hart, W. E., Halliday, S., Belew, R., & Olson, A. J. (2012). *Updated for version 4.2.5*. 66.

- Navarro del Hierro, J., Herrera, T., García-Risco, M. R., Fornari, T., Reglero, G., & Martín, D. (2018). Ultrasound-assisted extraction and bioaccessibility of saponins from edible seeds: Quinoa, lentil, fenugreek, soybean and lupin. *Food Research International*, *109*, 440-447. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.04.058>
- Nkhata, S. G., Ayua, E., Kamau, E. H., & Shingiro, J.-B. (2018). Fermentation and germination improve nutritional value of cereals and legumes through activation of endogenous enzymes. *Food Science & Nutrition*, *6*(8), 2446-2458. <https://doi.org/10.1002/fsn3.846>
- Ohanenye, I. C., Tsopmo, A., Ejike, C. E. C. C., & Udenigwe, C. C. (2020). Germination as a bioprocess for enhancing the quality and nutritional prospects of legume proteins. *Trends in Food Science & Technology*, *101*, 213-222. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.05.003>
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2020). *Obesidad y sobrepeso*. Obtenido de: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
- Okumura, K., Hosoya, T., Kawarazaki, K., Izawa, N., & Kumazawa, S. (2016). Antioxidant Activity of Phenolic Compounds from Fava Bean Sprouts: Antioxidants in fava bean sprouts.... *Journal of Food Science*, *81*(6), C1394-C1398. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13330>
- FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2016). *BENEFICIOS NUTRICIONALES DE LAS LEGUMBRES*. FAO.
- Phenol-Explorer. (2021). *Showing all polyphenols found in Broad bean pod, raw*. Recuperado 11 de mayo de 2021, de <http://phenol-explorer.eu/contents/food/570>
- Phenol-Explorer. (2021). *Showing all polyphenols found in Broad bean seed, whole, raw*. Recuperado 11 de mayo de 2021, de <http://phenol-explorer.eu/contents/food/564>
- Prabhu, D. S., & Rajeswari, V. D. (2018). In vitro and in silico analyses of *Vicia faba* L. on Peroxisome proliferator-activated receptor gamma: D and V. *Journal of Cellular Biochemistry*, *119*(9), 7729-7737. <https://doi.org/10.1002/jcb.27123>
- PubChem. (2021). *Quercetin 3-O-glucuronide*. Recuperado 9 de mayo de 2021, de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5274585>

- Revilla, I., 2015. Impact of thermal processing on faba bean (*Vicia faba*) composition. In: Preedy, V. (Ed.), *Processing and Impact on Active Components in Food*. Elsevier, Amsterdam, pp. 337–343
- Rodríguez-Heredia, L. (2017). *Compuestos fenólicos extraíbles comunes en alimentos de origen vegetal*. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Nuevo León, México.
- Ruiz-Ojeda, F., Rupérez, A., Gomez-Llorente, C., Gil, A., & Aguilera, C. (2016). Cell Models and Their Application for Studying Adipogenic Differentiation in Relation to Obesity: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(7), 1040. <https://doi.org/10.3390/ijms17071040>
- Saleh, H. M., Hassan, A. A., Mansour, E. H., Fahmy, H. A., & El-Bedawey, A. E.-F. A. (2019). Melatonin, phenolics content and antioxidant activity of germinated selected legumes and their fractions. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 18(3), 294-301. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2017.09.001>
- Stanković, M. S., Petrović, M., Godjevac, D., & Stevanović, Z. D. (2015). Screening inland halophytes from the central Balkan for their antioxidant activity in relation to total phenolic compounds and flavonoids: Are there any prospective medicinal plants? *Journal of Arid Environments*, 120, 26-32. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2015.04.008>
- Tarasevičienė, Ž., Viršilė, A., Danilčenko, H., Duchovskis, P., Paulauskienė, A., & Gajewski, M. (2019). Effects of germination time on the antioxidant properties of edible seeds. *CyTA - Journal of Food*, 17(1), 447-454. <https://doi.org/10.1080/19476337.2018.1553895>
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Hawkins Byrne, D. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6-7), 669-675. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.01.003>
- Thomé, O. W. (1885). *Flora von Deutschland. Flora von Deutschland. Österreich und der Schweiz, Alemania*.
- Torres-Villarreal, D., Camacho, A., Castro, H., Ortiz-Lopez, R., & de la Garza, A. L. (2019). Anti-obesity effects of kaempferol by inhibiting adipogenesis and increasing lipolysis in 3T3-L1 cells. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 75(1), 83-88. <https://doi.org/10.1007/s13105-018-0659-4>

- Trott, O., & Olson, A. J. (2010). AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. *Journal of computational chemistry*, 31(2), 455-461. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>
- USDA. U.S. Department of Agriculture. (a) (2018). *Beans, kidney, red, mature seeds, raw*. Recuperado el 22 de marzo de 2021 de: <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/173744/nutrients>
- USDA. U.S. Department of Agriculture. (b) (2018). *Broadbeans (fava beans), mature seeds, cooked, boiled, without salt*. Recuperado el 22 de marzo de 2021 de: <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/173753/nutrients>
- USDA. U.S. Department of Agriculture. (c) (2018). *Broadbeans (fava beans), mature seeds, raw*. Recuperado el 22 de marzo de 2021 de: <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/175205/nutrients>
- USDA. U.S. Department of Agriculture. (d) (2018). *Chickpeas (garbanzo beans, bengal gram), mature seeds, raw*. Recuperado el 22 de marzo de 2021 de: <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/173756/nutrients>
- USDA. U.S. Department of Agriculture. (e) (2018). *Lentils, raw*. Recuperado el 22 de marzo de 2021 de: <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/172420/nutrients>
- USDA. U.S. Department of Agriculture. (f) (2018). *Soy nuts*. Recuperado el 22 de marzo de 2021 de: <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/1100447/nutrients>
- Valero, G. T. (2018). *La alimentación española: Características nutricionales de principales alimentos de nuestra dieta*.
- Valente, I. M., Maia, M. R. G., Malushi, N., Oliveira, H. M., Papa, L., Rodrigues, J. A., Fonseca, A. J. M., & Cabrita, A. R. J. (2018). Profiling of phenolic compounds and antioxidant properties of European varieties and cultivars of *Vicia faba* L. pods. *Phytochemistry*, 152, 223-229. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2018.05.011>
- Vermerris, Wilfred & Nicholson, Ralph. (2006). Phenolic Compound Biochemistry. 10.1007/978-1-4020-5164-7.
- Vogel, H. G., Maas, J., Hock, F. J., & Mayer, D. (Eds.). (2013). *Drug Discovery and Evaluation: Safety and Pharmacokinetic Assays*. Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-25240-2>
- Wang, Y., Xiao, J., Suzek, T. O., Zhang, J., Wang, J., & Bryant, S. H. (2009). PubChem: A public information system for analyzing bioactivities of small molecules. *Nucleic Acids Research*, 37(suppl\_2), W623-W633. <https://doi.org/10.1093/nar/gkp456>