

**UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ FAUSTINO
SÁNCHEZ CARRIÓN**

**FACULTAD DE INGENIERÍA AGRARIA, INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS Y AMBIENTAL**

**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS**



**EVALUACION DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL Y
CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES DEL *Phaseolus vulgaris*
“FRIJOL”**

**TESIS PARA OPTAR EL TITULO DE
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

PATRICIA DEL PILAR CLAROS OSORIO

HUACHO –PERU

2021

**UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ FAUSTINO
SÁNCHEZ CARRIÓN**

**FACULTAD DE INGENIERÍA AGRARIA, INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS Y AMBIENTAL**

**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS**

**EVALUACION DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL Y
CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES DEL *Phaseolus vulgaris*
“FRIJOL”.**

Sustentado y aprobado ante el Jurado evaluador

**Dra. Sarela Carmen Alfaro Cruz
Presidente**

**Dr. Danton Jorge miranda Cabrera
Secretario**

**Dr. Fredesvindo Fernández Herrera
Vocal**

**Ing. Antonio Macavilca Ticlayauri
Asesor**

**HUACHO – PERU
2021**

DEDICATORIA

A mi madre Vilma Osorio Jiménez que en paz descansa por haberme forjado como la persona que soy en la actualidad; mucho de mis logros se los debo a ella entre los que se incluye este, me formaste con reglas y buenos principios, me motivaste constantemente para alcanzar mis anhelos.

A mis hermanos Elizabet y José que son como mis segundos padres, por su persistente apoyo económico y moral

A mi padre Juan Claros Espinoza, porque cumplió un papel importante en mi vida.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por haberme permitido el milagro de la vida, por guiarme a lo largo de mi existencia.

Gracias a mis padres: Vilma y Juan, a mis hermanos por su cariño, consejos y apoyo incondicional que me hicieron una mejor persona y de una u otra forma me acompañaron en todo este proceso.

Finalmente quiero expresar mi más grande y sincero agradecimiento a mi asesor Ing. Edwin Macavilca, principal colaborador durante todo este proceso, quien con su dirección, conocimiento, enseñanza y colaboración permitió el desarrollo de este proyecto.

A todos los maestros que me guiaron y aportaron en mi formación profesional y a todos que por involuntaria omisión no fueron mencionados, **MUCHAS GRACIAS**

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	3
AGRADECIMIENTO	4
RESUMEN	9
ABSTRACT	10
INTRODUCCIÓN.....	11
CAPITULO I:PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	12
1.1. Descripción de la realidad problemática	12
1.2. Problemas de la Investigación	12
1.2.1. Problema General	12
1.2.2. Problemas Específicos.....	12
1.3. Objetivos de la Investigación	13
1.3.1. Objetivos General.....	13
1.3.2. Objetivos Específicos	13
1.4. Justificación de la Investigación.....	13
1.5. Delimitación del estudio.....	13
1.6. Viabilidad del estudio.....	14
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	15
2.1. Antecedentes de la Investigación	15
2.1.1. Antecedentes Internacionales	15
2.1.2. Antecedentes Nacionales.....	18
2.2. Bases Teóricas	21
2.2.1. <i>Phaseolus vulgaris</i> (Frijol).....	21
2.2.2. <i>Cajanus cajan</i> (Frijol de palo).....	33
2.2.3. Antioxidantes.....	34
2.2.4. Polifenoles	35
2.2.5. Capacidad antioxidante	37
2.3. Definiciones conceptuales	40
2.4. Formulación de Hipótesis.....	40
2.4.1. Hipótesis General	40
2.4.2. Hipótesis Específicos	40
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	41
3.1. Diseño Metodológico	41
3.1.1. Ubicación.....	41
3.1.2. Tipo de Investigación	41

3.1.3. Nivel de Investigación.....	41
3.1.4. Diseño Experimental	41
3.1.5. Tratamientos	41
3.1.6. Enfoque	44
3.2. Población y Muestra	44
3.2.1. Población.....	44
3.2.2. Muestra.....	44
3.3. Operacionalización de Variables e indicadores	44
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	45
3.4.1. Técnicas a emplear	45
3.4.2. Determinación de capacidad antioxidante total.....	47
3.4.3. Determinación de polifenoles.....	49
3.4.4. Descripción de instrumentos	49
3.5. Técnicas para el procesamiento de la información.....	51
CAPÍTULO IV: RESULTADOS	52
4.1. Caracterización fisicoquímica de los frijoles.....	52
4.2. Determinación de la capacidad antioxidante	54
Método DPPH.....	54
4.3. Determinación de Polifenoles.....	56
4.4. Relación de la capacidad antioxidante, contenido de polifenoles y color.	58
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN	61
5.1. Discusión	61
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	65
6.1. conclusiones.....	65
6.2. Recomendaciones	66
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	67

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición química de algunas variedades de frijol	24
Tabla 2. Los métodos para evaluar la actividad antioxidante basados en HAT y ET ...	37
Tabla 3. Operacionalización de las variables e indicadores del estudio.....	45
Tabla 4. Humedad y parámetros de color (CR-400) en grano de frijol.....	52
Tabla 5. Fotografías de las muestras de granos de frijol	53
Tabla 6. Capacidad Antioxidante en las variedades de frijol método DPPH	54
Tabla 7. Capacidad antioxidante de los granos de frijol por el método ABTS+.....	56
Tabla 8. Contenido de polifenoles totales en las muestras de granos de frijol.....	56
Tabla 9. Matriz de correlación de Pearson para las evaluaciones en el frijol.....	58

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Antigüedad y localización de los hallazgos arqueológicos de Frijol	21
Figura 2. Estructura del grano de frijol.....	23
Figura 3. Compuestos químicos en semillas de frijol.....	26
Figura 4. Diversidad de frijol común de la Amazonia central de Perú	27
Figura 5. Frijol Ucayalino	28
Figura 6. Frijol Cápsula	28
Figura 7. Frijol Bayo	29
Figura 8. Frijol caraota	29
Figura 9. Variabilidad morfológica de los granos de las Ñuñas.....	30
Figura 10. Frijol Ñuña pava.....	31
Figura 11 .Frijol rojo	31
Figura 12. Rojo moteado	32
Figura 13 . Producción de Frijol grano seco Enero - Diciembre 2004-2019.....	32
Figura 14. Frijol de palo	34
Figura 15. Clasificación de Polifenoles	36
Figura 16. Esquema del proceso experimental de la investigación.	43
Figura 17. Diagrama de flujo de la obtencion de harina de frijol.....	45
Figura 18. Determinación de color de grano de frijol.	46
Figura 19. Determinación de Humedad de grano de frijol por método gravimétrico. ...	47
Figura 20. Capacidad antioxidante por el método DPPH extractable y Quencher.....	55
Figura 21. Curva estándar de Trolox para la capacidad antioxidante método ABTS+...	55
Figura 22. Curva de estándar del ácido gálico para cuantificar de polifenoles totales...	58
Figura 23. Diagrama biplot de las evaluaciones en el frijol	59
Figura 24. Dendograma de similaridad en base a la capacidad antioxidante y color.....	60
Figura 25. Correlación mayor encontrada en la capacidad antioxidante del frijol.....	60

EVALUACION DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL Y CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES DEL *Phaseolus vulgaris* “FRIJOL”

Claros Osorio Patricia del Pilar., Edwin Antonio Macavilca Ticlayauri

RESUMEN

En el presente estudio se planteó como **Objetivo** la determinación de la capacidad antioxidante y del contenido de fenoles totales de frijoles comerciales. En **Materiales y Métodos** se evaluaron 12 frijoles (Rojo arriñonado, Calima, Caraota, Renkino, Ucayalino, ñuña pava, Ckamitaki, ñuña Margarita, Capsula, Bayo, pusac puncuy y palo), de cada variedad previamente medida la humedad, el color con el espacio CIEL*a*b* y molida se obtuvo un extracto en dos fases (Metanol/agua 1/1 v/v pH=2,2 y Acetona/Agua 70/30 v/v) y en ella se determinó la capacidad antioxidante mediante los métodos DPPH y ABTS⁺, también el contenido de polifenoles totales mediante el ensayo de Folin-Ciocalteu, luego se empleó el método directo DPPH-Quencher para determinar la Capacidad antioxidante total, mediante el coeficiente de correlación de Pearson se estableció la relación entre el color, la capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles totales, con la prueba de Tukey se compararon las medias de las mediciones en las variedades, con el Análisis de Componentes Principales y dendograma de similaridad se visualizó la asociación y variabilidad de los ensayos y variedades de frijoles. En los **Resultados** todos los extractos mostraron actividad inhibitoria; el método DPPH extractable (5,08 a 37,04 uMol DPPH/g ms), método ABTS* (11,39 a 45,29 uMol ET/g ms), DPPH-Quencher (8,20 a 66,13 uMol DPPH/g ms) y Contenido de polifenoles totales (0,61 a 2,61 mg EAG/g ms), los frijoles Rojo arriñonado, Calima, Caraota y Renkino son las muestras más resaltantes en estos compuestos, y las variedades Capsula, Bayo, pusac puncuy y palo con menor contenido. Se estableció que los frijoles con valor en L* y b* tienen mayor capacidad antioxidante y que están correlacionadas con el contenido de polifenoles totales. **Conclusiones:** los frijoles son una fuente de compuestos fenólicos, tienen una adecuada actividad antioxidante y están relacionadas entre ambas determinaciones, y también con el color de las mismas, por lo que se confirma como un alimento de excelente valor funcional.

Palabras claves: ensayos antioxidantes, compuestos fenólicos, DPPH-Quencher, frijol.

ABSTRACT

The **objective** of this study was to determine the antioxidant capacity and the content of total phenols of commercial beans. In **Materials and Methods**, 12 beans were evaluated (Red kidney, Calima, Caraota, Renkino, Ucayalino, ñuña pava, Ckamitaki, ñuña Margarita, Capsula, Bayo, Pusac puncuy and palo), of each variety previously measured the humidity, the color with the CIEL * a * b * space and ground, an extract was obtained in two phases (Methanol / water 1/1 v / v pH = 2,2 and Acetone / Water 70/30 v / v) and in it the antioxidant capacity was determined by means of DPPH and ABTS + methods, also the content of total polyphenols through the Folin-Ciocalteu test, then the direct DPPH-Quencher method was used to determine the total antioxidant capacity, through the Pearson correlation coefficient the relationship between color, the antioxidant capacity and the content of total polyphenols, with the Tukey test the means of the measurements in the varieties were compared, with the Principal Component Analysis and dendogram of similarity the association and variability of the tests and varieties of beans. In the **Results** all the extracts showed inhibitory activity; the extractable DPPH method (5,08 to 37,04 uMol DPPH / g ms), ABTS * method (11,39 to 45,29 uMol ET / g ms), DPPH-Quencher (8,20 to 66,13 uMol DPPH / g ms) and Total polyphenol content (0,61 to 2,61 mg EAG / g ms), the Kidney Red, Calima, Caraota and Renkino beans are the most outstanding samples in these compounds, and the Capsula, Bayo, Pusac puncuy and palo varieties with lower content. It was established that beans with L * and b * values have higher antioxidant capacity and that they are correlated with the content of total polyphenols. **Conclusions:** beans are a source of phenolic compounds, have adequate antioxidant activity and are related between both determinations, and also with their color, which is why it is confirmed as a food of excellent functional value.

Keywords: antioxidant assays, phenolic compounds, DPPH-Quencher, beans.

INTRODUCCIÓN

La variedad de *Phaseolus vulgaris* constituye un alimento vegetal ancestral y tradicional cuyo origen va desde América Latina hasta México, reconocida como una legumbre con buena fuente de proteínas, además de ser bajo en grasa es rica en fibra dietética y almidón, también son beneficiosas por sus micronutrientes donde se incluyen minerales y vitaminas, así como, compuestos bioactivos incluyendo oligosacáridos, lectinas, saponinas, fitatos y compuestos fenólicos, los mismos que le confieren a estos alimentos como promotores de la salud por contener compuestos fitoquímicos (Teixeira-Guedes et al., 2019), de igual importancia a despertado los frijoles coloridos ya que los compuestos de pigmentación son de mayor propiedad antioxidante, sin embargo, su consumo está asociada especialmente en la población de bajo recursos y solo está presente en la dieta de forma limitada, una de las forma de incentivar su consumo e importancia alimentaria es caracterizándola de manera funcional, resaltando su valor mediante el conocimiento de compuestos bioactivos en esta leguminosa, por lo que la evaluación de la capacidad antioxidante y cuantificación de compuestos polifenólicos totales es un primer paso a su revalorización.

En el Perú se comercializan frijoles coloridos que van desde blancos, amarillos, rojos y negros, pues existe gran variabilidad en estas semillas, ya sea por su tamaño, forma y color, las mismas que influyen en los agricultores y consumidores, pero en la que muy poco se sabe sobre su potencialidad funcional o se valora esta propiedad, por lo que en este estudio se evalúa la capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles totales de 12 frijoles comerciales incluyendo el frijol “palo” (*Cajanus cajan*), y se relaciona con la coloración de las semilla, de esta manera se aporta con la valoración de este recurso vegetal de mucha importancia alimentaria disponible en el Perú.

CAPITULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la realidad problemática

El frijol (*Phaseolus Vulgaris* L.) es uno de los principales granos componentes de la dieta básica humana. En el Perú la producción de frijol llega a las 72,500 toneladas (León, 2020). Nuestro país tiene gran diversidad de frijoles, lo que les permite a los consumidores tener preferencias en cuanto a de tamaño, forma y color de los granos (FAO, 2018).

Los frijoles son una fuente importante de proteínas, almidones, vitaminas, minerales y fibras, son libres de colesterol y tienen muy poco sodio y grasa (Valdés, Coelho, Michelluti, & Tramonte, 2011). Además de ello tienen propiedades funcionales debido a su alto contenido polifenoles y su alto valor antioxidante, los cuales varían por el color de los granos, los Polifenoles del frijol común muestran efectos de promoción de la salud en relación con la prevención de enfermedades crónicas, incluidos cánceres, enfermedades cardiovasculares, obesidad y diabetes (Yang, Gan, Ge, Zhang, & Corke, 2018).

Los frijoles secos poseen beneficios potenciales para la salud que se han pasado por alto en gran medida, y actualmente existe poca información sobre las propiedades funcionales de la gran diversidad de frijoles producidos en el Perú, por eso se ha cree conveniente evaluar la capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles de los frijoles más comercializados en el Perú.

1.2. Problemas de la Investigación

1.2.1. Problema General

¿Cuál es la capacidad antioxidante total y el contenido de polifenoles totales en los frijoles *Phaseolus vulgaris* cultivados en el Perú?

1.2.2. Problemas Específicos

- ¿Cuánto es la capacidad antioxidante total en frijoles *Phaseolus vulgaris* cultivados en el Perú?
- ¿Cuál es el contenido de polifenoles totales en frijoles *Phaseolus vulgaris* cultivados en el Perú?

1.3. Objetivos de la Investigación

1.3.1. Objetivos General

Determinar la capacidad antioxidante total y el contenido de polifenoles totales en los frijoles *Phaseolus vulgaris* cultivados en el Perú.

1.3.2. Objetivos Específicos

- Determinar la capacidad antioxidante total por el método directo DPPH en los frijoles *Phaseolus vulgaris* cultivados en el Perú.
- Cuantificar el contenido de polifenoles totales por el Método de Folin-Ciocalteu en los frijoles *Phaseolus vulgaris* cultivados en el Perú.

1.4. Justificación de la Investigación

Esta investigación analizará 12 variedades de frijoles que forman parte de la dieta alimentaria en el Perú y aportará resultados de cada uno de ellos, para dar a conocer la capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles de los frijoles que son elementos que protegen a las células del cuerpo frente a la agresión de los radicales libres y los polifenoles totales, estos representan un papel importante para prevenir y retrasar el desarrollo de enfermedades como la diabetes, el cáncer y las enfermedades neurodegenerativas y cardiovasculares. Ya que todavía son pocos los estudios que investigan los compuestos fenólicos, actualmente existe muy poca información, se ha estudiado muy poco todas las variedades que producimos y peor aún las nativas tales como el frijol de palo y la Ñuña. Se han hecho caracterizaciones por método de extracción, por lo cual planteamos determinar la capacidad antioxidante total por el método directo que muy poco se ha tratado.

1.5. Delimitación del estudio

La realización de esta investigación busca evaluar la capacidad antioxidante total y contenido de polifenoles totales de 12 variedades de frijoles cultivados en el Perú.

Esta investigación se llevará a cabo en el Laboratorio de Procesos e Ingeniería de Alimentos, donde está instalado el proyecto de investigación modalidad FOCAM: “Formulación de bebidas funcionales con capacidad antioxidante a base de frutas y verduras”.

En las instalaciones de la Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión, está ubicado en la ciudad de Huacho-Perú. Con una duración de 3 meses.

1.6. Viabilidad del estudio

Este estudio es factible, debido a que se dispone de un laboratorio de equipado con la tecnología que se requiere para realizar la determinación de capacidad antioxidante y polifenoles, el frijol es una leguminosa ampliamente comercializado durante todo el año en el Perú.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la Investigación

2.1.1. Antecedentes Internacionales

Weidner, Król, Karama y Amarowicz (2018), en su investigación titulada “Compuestos fenólicos y las propiedades antioxidantes en semillas de variedades de frijol verde y amarillo (*Phaseolus vulgaris* L.)”, realizada en la Universidad de Warmia y Mazury en Olsztyn y el Instituto de Reproducción Animal e Investigación Alimentaria de la Academia de Ciencias de Polonia, Olsztyn, Polonia. Tuvo como objetivo identificar, cuantificar y comparar los polifenoles de las semillas de frijol provenientes de dos cultivares de vaina verde y dos amarillos. El estudio también incluyó la determinación de sus propiedades antioxidantes y la capacidad reductora de los extractos de las semillas, análisis RP-HPLC de compuestos polifenólicos.

Demostraron la existencia de una relación entre el color de las vainas de frijol y el cantidad de polifenoles de sus semillas. Los cultivares tienen mayor contenido de fenólicos que las amarillas. Se identificaron los ácido cafeico, ácido p-cumarico, ácido ferúlico y ácido sinapico. La relación demostrada entre los fenólicos de la semilla y el color de la vaina podría ayudar a la selección de cultivares de frijoles más adecuados para el cultivo orgánico y mejores efectos sobre la salud de los consumidores.

García, Aquino, Chávez, Vera y Carrillo (2018), asegura en su investigación titulada los compuestos bioactivos y la actividad antioxidante en el frijol común están influenciados por la temporada de cultivo y el genotipo, realizada en el Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca, el Instituto Politécnico Nacional y la Universidad Veracruzana, México. Su objetivo fue evaluar los efectos genotípicos y ambientales sobre el contenido de polifenol, flavonoides y antocianinas, y la actividad antioxidante (DPPH) en las capas de semillas y los cotiledones del frijol común, se evaluaron 54 poblaciones nativas y cinco variedades mejoradas a partir de muestras de semillas que se cultivaron en dos temporadas de cultivo, se evaluó el color de la semilla. En la cosecha, se obtuvo una muestra seca de grano de cada población, se remojo por 12 h,

para separar las capas de las semillas y de los cotiledones. Las poblaciones y variedades de frijol común mostraron diferencias significativas ($P < 0,05$) en las composiciones de polifenoles, flavonoides y antocianinas, actividad antioxidante y parámetros de color de las semillas. Concluyendo que los efectos de interacción genotipo-ambiente en los compuestos bioactivos proporcionan información sobre las opciones para la mejora genética del frijol común para promover su consumo.

Fan y Beta (2017), afirman en su investigación “Discriminación del origen geográfico del frijol Napirira (*Phaseolus vulgaris* L.) En base a perfiles fenólicos y actividad antioxidante” realizada en la Universidad de Manitoba, Canadá. Estudiaron la influencia de las áreas geográficas en los compuestos fenólicos y la actividad antioxidante en los frijoles Napirira (*Phaseolus vulgaris* L.) de diferentes áreas de cultivo de frijoles de Malawi, y valorar la viabilidad de clasificar el frijol Napirira basándose en áreas geográficas de las regiones productoras. Se encontró diferencias significativas ($p < 0,05$) en el contenido fenólico libre y unido, así como la capacidad de eliminación de radicales libres DPPH y ORAC entre algunas de las diferentes granjas, lo cual muestra que los parámetros evaluados están influenciados significativamente por la región donde se produce.

Los resultados del análisis de componentes principales y el análisis de agrupamiento jerárquico indicaron que el contenido fenólico, actividad antioxidante y contenido de ácidos fenólicos individuales podrían ser parámetros para crear una clasificación de frijol Napirira de acuerdo con el área geográfica de las regiones productoras de frijol.

Meireles (2017), en su tesis desarrollo: Efecto del procesamiento doméstico del frijol negro (*Phaseolus vulgaris* L.) sobre el perfil de compuestos fenólicos solubles e insolubles y su capacidad antioxidante, desarrollada en la Universidad Federal Fluminense, Niteroi, Brasil. El objetivo de este trabajo fue investigar la influencia del procesamiento doméstico (remojo y cocción) del frijol negro (*Phaseolus vulgaris* L.) sobre el contenido de polifenoles solubles e insolubles, y su capacidad antioxidante. Las muestras comerciales de frijol negro se dividió en 2 tratamientos: cocción por presión sin remojo previo, y

cocción por presión con remojo previo, se cocinaron por 32, 40 y 48 min, se caracterizaron (textura, composición centesimal, contenido de polifenoles solubles e insolubles y su capacidad antioxidante total (TEAC, ORAC y Folin-Ciocalteu)).

En todas las muestras se identificaron compuestos fenólicos flavonoides y no flavonoides. El remojo provocó menor retención de los polifenoles, la ausencia de remojo aumentó la fracción insoluble para el contenido total de polifenoles. La capacidad antioxidante total fue influenciada por la cocción y el proceso de y la presencia del proceso previo del remojo resultó en una reducción del 5% para los ensayos de TEAC, un 20% para Folin-Ciocalteu, y 15% para ORAC. Se concluye que el procesamiento de los frijoles influyó en el contenido y la distribución de polifenoles entre las fracciones solubles e insolubles, presenta potencial para influir de la bioactividad de estos compuestos preparados por diferentes procesos de cocción y remojo.

Ombra et al. (2016), afirma en su investigación titulada “Composición fenólica y actividades antioxidantes y antiproliferativas de los extractos de doce ecotipos endémicos de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) del sur de Italia antes y después de cocinar”, realizada en Instituto de Ciencia de los Alimentos, Avellino, Italia. Su objetivo fue analizar los extractos de doce ecotipos de *Phaseolus vulgaris* para determinar sus perfiles fenólicos, la actividad antiproliferativa *in vitro* y la actividad antioxidante. La cromatografía líquida de ultra rendimiento con detector de matriz de diodos (UPLC-DAD) permitió cuantificar algunos polifenoles conocidos (ácido gálico, formononetina, ácido clorogénico, epicatequina, miricetina, kaempferol y ácido cafeico. La actividad antioxidante varió de 1,568 a 66,572 mg necesarios para inhibir la actividad del radical DPPH en un 50% (CE50).

Los extractos, excepto los obtenidos de las muestras no pigmentadas, inhibieron la proliferación de células de adenocarcinoma colorrectal epitelial humano (Caco-2), línea celular A549 NSCLC y células de cáncer de mama humano CMF-7. Los cultivares diferían en la composición y concentración de polifenoles, incluidas las antocianinas; la cocción afectó la actividad antioxidante solo marginalmente. Las diferencias en la composición fenólica

entre los grupos de frijoles influyeron en las actividades biológicas y no encontraron diferencias significativas en las actividades biológicas dentro de la misma variedad, antes y después de la cocción.

Mujica, Granito, y Soto (2012), afirman que realizaron la investigación “Variación de los compuestos fenólicos de (*Phaseolus vulgaris* L), durante el almacenamiento y su relación con el endurecimiento”, realizada en Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado y la Universidad Simón Bolívar, Venezuela. Teniendo como objetivo evaluar el efecto del almacenamiento sobre los polifenoles y la capacidad antioxidante de los cotiledones y la cubierta de la semilla de frijol, así como su relación con el endurecimiento. Las muestras de granos se almacenaron a 5 ° C - 34% de humedad relativa y 37 ° C - 75% de humedad relativa por 120 días. Las propiedades físicas se realizaron en el grano entero, mientras que los compuestos fenólicos y capacidad antioxidante se analizaron en cotiledones y frente.

El almacenamiento a 37 ° C - 75% de HR incrementó la dureza del grano y redujo su capacidad de imbibición, provocando una gran disminución de la cantidad de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante comparado con el almacenamiento a 5 ° C - 34% RH. El incremento de ácido ferúlico almacenado a 37 ° C - 75% de HR se relaciona de manera directa con el endurecimiento del frijol.

2.1.2. Antecedentes Nacionales

Salas, Ordoñez y Reátegui (2015), asegura en su investigación titulada Polifenoles totales y capacidad antioxidante (DPPH Y ABTS) en cuatro variedades de frejol (*Phaseolus vulgaris* L.) Crudo seco, remojado y cocido, esta investigación fue desarrollada en la Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María. Su objetivo fue cuantificar los polifenoles y capacidad antioxidante por dos métodos (DPPH y ABTS) de cuatro variedades de frijol (Huasca, Huallaguino, Panamito y Sumaq puka) en su cáscara, cotiledón, grano integral en 3 estados (crudo, remojado y cocido). Los resultados mostraron que

la mayor capacidad antioxidante por ambos métodos y en todos los tratamientos lo presentan los frijoles Huallaguino.

Esparza (2017), asegura en su tesis titulada “Capacidad Antioxidante y Polifenoles Totales del Grano de Cacao (*Theobroma cacao* L.) De los Distritos de Naranjillo y Rioja”, su objetivo fue determinación de la capacidad antioxidante y polifenoles totales del cacao de Naranjillo y Rioja, se determinó la capacidad antioxidante (método de DPPH) y polifenoles. Respecto a la capacidad antioxidante del cacao de Naranjillo el mayor porcentaje (41,83%) que el de Rioja con (40,24%) y en cuanto a los polifenoles el cacao de Naranjillo presenta mayor concentración que los de Rioja. En conclusión el cacao de Naranjillo posee mayor capacidad antioxidante y polifenoles totales que los de Rioja.

Jurado et al. (2016), en su investigación evaluación del contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de los extractos etanólicos de los frutos de aguaymanto (*Physalis peruviana* L.) de diferentes lugares del Perú, desarrollada en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú. Tuvieron como objetivo evaluar y comparar el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de aguaymanto procedentes de Huánuco, Junín, Ancash y Cajamarca.

Los resultados muestran que el extracto etanólico del aguaymanto de Huánuco presenta mayor concentración de polifenoles ($149,3 \pm 1,62$) y de capacidad antioxidante ($100 \pm 1,72\%$, IC₅₀ de 1,86; mg/mL). Por ello se concluye que los frutos de aguaymanto procedentes de Huánuco son una buena fuente para elaborar una diversidad de productos beneficiosos para la salud y para la economía.

Ruiz, Venegas, Díaz y Rodríguez (2012), en su investigación titulada: Capacidad antioxidante in vitro de la isoflavonas totales obtenidas de semillas de *Glycine max* L. (Soya) provenientes de la provincia de Jaén- Cajamarca, realizada en la Universidad Nacional de Trujillo, Perú. En este estudio se midió la cantidad de isoflavonas totales (método de Kostennikova Z.) de semilla de Soja provenientes de Jaén-Cajamarca y la capacidad antioxidante in vitro de

las isoflavonas totales (método de Brand-Williams, et al). La “eficiencia antiradicalaria” de las isoflavonas de la soya de Jaén, es de $0,00250 \text{ mL} \times \mu\text{g}^{-1} \times \text{min}^{-1}$; dicho valor es mayor a la del ácido tánico e inferior a la eficiencia del ácido gálico.

Quintanilla (2011), en su tesis “Evaluó la actividad antioxidante y cuantificación de quercetina en dos especies de frijol: frijol palo (*Cajanus cajan* L.) Frijol chaucha (*Phaseolus vulgaris* L), realizada en la Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María, Perú. En esta investigación se determinó la concentración de polifenoles y quercetina y la actividad antioxidante en ambas especies.

Se empleó el método de Folin-Ciocalteu (Polifenoles), método descrito por Tokusoglu et al., 2003 (quercetina), capacidad antioxidante DPPH descrito por Brand-Williams et al., 1995 y método ABTS. Para el análisis estadístico se empleó el diseño completo al azar (DCA) y la de prueba Tuckey. Los resultados de los contenido de polifenoles y quercetina la cáscara de chaucha presenta mayor cantidad respecto a las demás muestras con $2747,8 \text{ GAE mg/100g}$ y $159,67 \pm 9,0 \text{ mg quercetina/100g}$. En cuanto al IC₅₀ para inhibición de DPPH la cáscara de frijol chaucha $0,032 \text{ mg/mL}$, y el IC₅₀ para inhibición de peroxilo es de $0,0078 \text{ mg/mL}$.

2.2. Bases Teóricas

2.2.1. Phaseolus vulgaris (Frijol)

Origen.

Las investigaciones arqueológicas ubican al *Phaseolus vulgaris* en diversos lugares, México y Perú. Debido a la gran diversidad genética de las especies silvestres y cultivadas que existen en México, Guatemala y los altos Andes, se afirma que el frijol es originario de América (Siddiq y Uebersax, 2012; Voyses, 2000). Sus orígenes se remontan a países que van desde el norte de México hasta el norte de Argentina y los cultivares han surgido de muchos años de domesticación de tipos silvestres con diferentes características de semillas (Biddle, 2017).

En la figura 1 se indican los lugares de hallazgos de *Phaseolus vulgaris* en el continente y años de antigüedad.

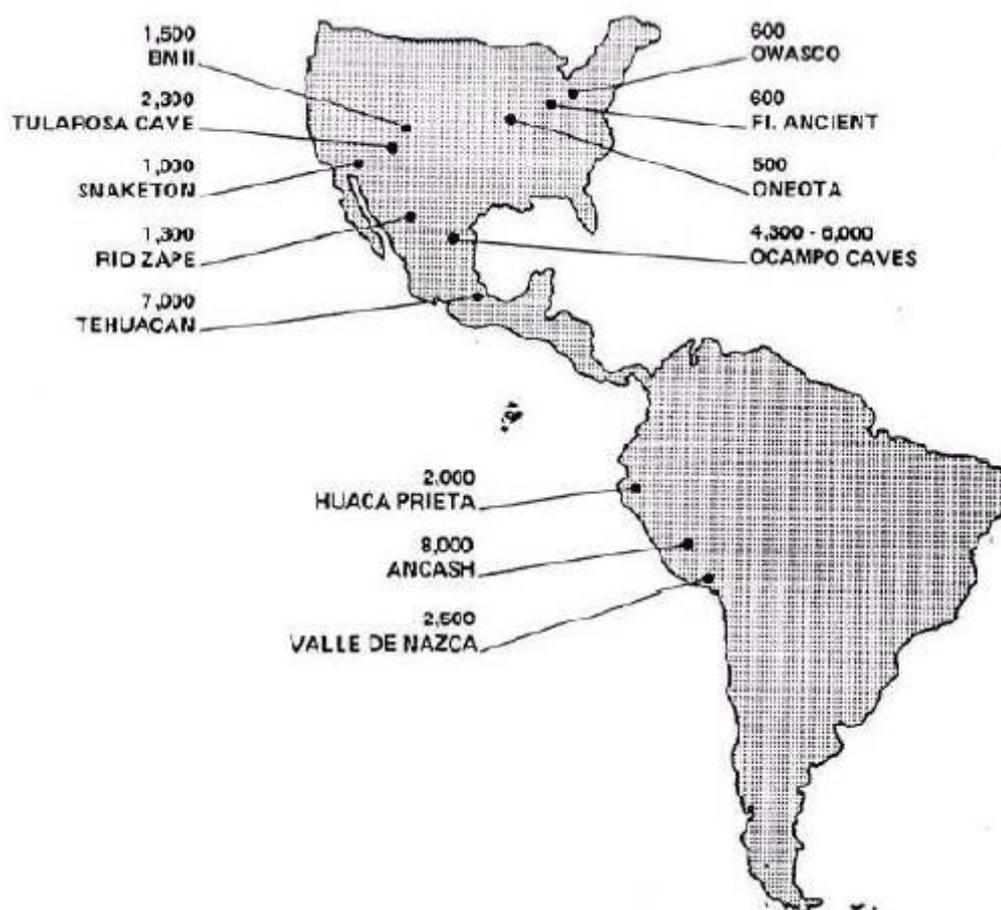


Figura 1. Antigüedad y localización de los hallazgos arqueológicos de frijol. Tomado de Debouck and Hidalgo (1985).

Se estima que el frijol llegó a las costas peruanas por América Central, debido a la antigüedad de los hallazgos arqueológicos de la planta de frijol en México datan de hace 4975 años AC y en el Perú data de hace unos 2200 años (Martínez, 2013). Las 30 especies de frijol halladas en el Callejón de Huaylas, son de grano rojo-marrón oscuro y rojo oscuro; granos moteados, algunos redondos, planos, alargados y arriñonados (Voyses, 1983).

Martínez (2013), menciona que el frijol se introdujo a África, Asia y Europa a inicios del siglo XVI con la llegada de los españoles a América, luego fue distribuido por comerciantes portugueses en África Oriental, finalmente llegó al territorio africano a través de los árabes que mercadeaban con los esclavos. Por ello actualmente el frijol se ubica en los principales países productores: India, China, Brasil, EE.UU., etc.

Taxonomía.

Debouck and Hidalgo (1985), clasifican al frijol de la siguiente manera:

Reino: Vegetal

Clase: Dicotiledoneae

Orden: Rosales

Familia: Leguminosae

Sub – Familia: Papilionoideae

Tribu: Phaseoleae

Género: Phaseolus

Especie: Phaseolus vulgaris L.

Nombres comunes: “frijol” (México hasta Panamá, Cuba y Perú), “Frejol” (Ecuador), “Habichuela” (Puerto Rico), “Poroto” (Argentina, Chile y Uruguay), “Feijão” (Brasil), “Bohne” (Alemania), “fagioli” (Italia), “Alubia o Judías” (España), “Monjeta” (Cataluña, España) y “Bean” (países de habla inglesa) (Yáñez, 2018).

Yang (2018), menciona que la ubicación del cultivo y el genotipo, así como la interacción genotipo \times ubicación, influyen directamente en la composición fitoquímica de los frijoles. En la figura 2 observamos la estructura del grano de frijol.



Figura 2. Estructura del grano de frijol, (Araneda, 2020).

Martínez (2013), refiere que el grano de frijol presenta tres partes: cotiledón (89%), testa (10%) y embrión o germen (1%). La testa del frijol presenta varios componentes, como la fibra y algunos compuestos fenólicos (Iniestra-González, Ibarra-Pérez, Gallegos-Infante, Rocha-Guzmán, & González Laredo, 2005).

Composición química.

Los frijoles son una excelente fuente de proteínas, Carbohidratos (70%), vitaminas (Tiamina, Rivo flavina, niacina, piridoxina, ácido fólico, Vit. A y Vit C) y minerales (Ca, Mg, Fe). Son excelentes fuentes de hierro, con un 30 % del nivel diario en una porción. Además contienen taninos, flavonoides, ácidos fenólicos y fibra, etc. (García, 2016; Martínez, 2013; Yánac, 2018). En la tabla 1 se presenta la composición química de algunas variedades de frijol (frijol de palo, frijol bayo y frijol caraota):

Tabla 1

Composición química de algunas variedades de frijol

	<i>Frijol palo</i>	<i>Frijol bayo</i>	<i>Frijol caraotas</i>
Energía (Kcal)	345	331	329
Energía (KJ)	1443	1385	1377
Agua (g)	10,3	12,9	13,5
Proteína g	18,4	19,0	21,2
Grasa total (g)	1,4	0,9	1,4
Carbohidratos totales (g)	66,1	63,2	60,0
Carbohidratos disponibles (g)	66,1	38,3	35,1
Fibra cruda(g)	7,8	3,6	3,5
Fibra dietaria (g)	-	24,9	24,9
Cenizas (g)	3,8	4,0	3,9
Calcio (mg)	114	99	97
Fósforo (mg)	388	386	387
Zinc (mg)	-	2,79	2,79
Hierro (mg)	2,90	6,30	7,50
Retinol µg	0,00	0,00	1,00
Vitamina A (µg)	-	0,0	0,0
Tiamina mg	0,84	0,31	0,50
Riboflavina mg	0,25	0,22	0,44
Niacina mg	2,95	1,84	1,57
Vitamina C mg	4,60	4,50	2,10

Nota. Tomado de tablas peruanas de composición De alimentos (Reyes, Gómez-Sanchez, Espinoza, Bravo, & Ganoza, 2009).

Respecto a las proteínas del frijol, San Román (2019) asevera que el cantidad se encuentra en un rango de 20 – 28 % de dependiendo de la variedad y lugar de producción, sin embargo Yánac (2018) refiere que el contenido de

proteínas puede variar de un 14% a 33%. Es un excelente proveedor de aminoácidos aromáticos: lisina, leucina e isoleucina (Martínez, 2013).

En cuanto a las grasas, posee un porcentaje muy bajo, siendo fosfolípidos un 25% a 35 % del total de grasa, el ácido graso más abundante es ácido linolénico. En lo concerniente a los carbohidratos, estos son los componentes mayoritarios del frijol, siendo la mayor fracción almidón y fibra dietética y una fracción significativamente menor están los azúcares (mono, di y oligosacáridos) (Martínez, 2013).

Yánac (2018), asevera que el frijol contiene un 52 % a 76% de carbohidratos de acuerdo a la variedad, siendo el almidón la fracción más importante de los carbohidratos del frijol. En cuanto a los componentes de la fibra, tenemos a las pectinas pentanos hemicelulosa, celulosa y lignina. Los oligosacaridos presentes en el frijol están: rafinosa, estaquiosa verbascosa, señalados como los responsables de la formación intestinal de flatos.

Además el frijol es también fuente de calcio, hierro, fosforo, magnesio y zinc, vitaminas como la tiamina, niacina y ácido fólico (Yánac 2018). El contenido de hierro es alto (4.82%), con una muy baja biodisponibilidad (0.8%) (Martínez, 2013).

Ranilla, Genovese, and Lajolo (2007), indican que la semilla de frijol común contiene varios compuestos bioactivos como inhibidores enzimáticos, lectinas, fitatos, oligosacáridos y sustancias fenólicas que pueden desempeñar funciones metabólicas en humanos y animales.

Compuestos fenólicos del frijol.

Yang et al. (2018), asevera que los principales componentes funcionales de los frijoles son los carbohidratos, las vitaminas, el fitato, las lectinas, la fibra soluble y los compuestos fenólicos. En cuanto a los compuestos fenólicos presentes en los frijoles tenemos a los flavonoides, flavonoles, flavanoles, isoflavonas, flavanonas, proantocianidinas, antocianinas y taninos, así como una amplia gama de ácidos fenólicos. Estos compuestos están presentes en forma libre, también pueden estar de forma insoluble conjugada, unidos con péptidos y oligosacáridos solubles y de forma insoluble unida. Los flavonoides se encuentran principalmente en formas libres, mientras que los ácidos

fenólicos en formas conjugadas y unidas. Existe una variación del 7 al 59%, del 28 al 76% y del 8 al 18% para los fenólicos libres, conjugados y unidos, respectivamente, según las variedades de frijol (Los, Zielinski, Wojeicchowski, Nogueira, & Demiate, 2018).

Los compuestos coloridos de los frijoles son las antocianinas, glucósidos flavonoides y leucoantocianidinas. Muchos estudios demuestran que el color de cáscara del frijol se debe principalmente a los flavonoles y estos se concentran generalmente en la testa del frijol. Las tres antocianinas presentes en el frijol negro son: delphinidina, petunidina y malvidina; en los pintos es el kaempferol y en los rosados la quercetina y kaempferol (Martínez, 2013). En la figura 3, se muestra la composición química del frijol.

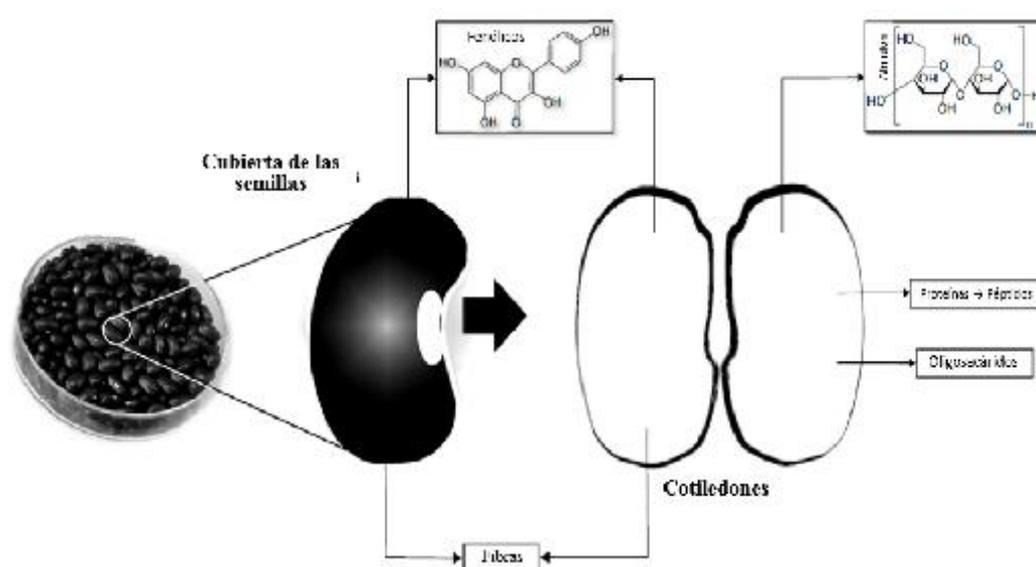


Figura 3. Compuestos químicos en semillas de frijol. Tomado de Los et al. (2018).

La actividad antioxidante del frijol seco de colores, se debe a la presencia de compuestos fenólicos, incluidos los flavonoides, que como se indicó anteriormente dan lugar al color de la capa de semillas. Como las capas de semillas coloreadas son una fuente dietética de compuestos de flavonol, que potencialmente pueden prevenir enfermedades y mejorar la salud humana debido a su papel como antioxidantes (Pitura & Arntfield, 2018).

Variedades.

Voysest (2000), menciona que existen distintos criterios para clasificar el frijol, pueden clasificarse por forma de consumo (grano seco, grano verde,

vainas verdes y grano tostado), por la duración de período de siembra y cosecha (Precoz y tardía), por reacción a la duración del día (insensible, sensible y neutro al fotoperíodo), por el hábito de crecimiento (Arbustivo y trepador), por las características del grano (tamaño, color y forma del grano), clase comercial (combinación de todas las características del grano: color, brillo tamaño y forma), por su origen (Mesoamericano: Durango, Jalisco y Mesoamérica; Andino: Granada, Chile y Perú).

El Perú tiene gran diversidad de frijoles y las preferencias de consumo varían por región. En la Costa prefieren frijoles de grano amarillo grandes o mediano (canario camanejo, canario barranquino, canario huaralino, canario chinchano), color crema o café claro (bayo chimú, bayo cocacho, bayo Lambayeque, bayo mochica, bayo huerequeque), frijoles blancos pequeños (panamito) y grandes (caballero). En toda la sierra consumen frijoles para tostar o ñuña (sierra norte) y poroto (sierra sur); además en la Sierra norte (frijoles blanco o bayo) y Sierra sur (frijol rosados tipo red kidney). La Región selva prefieren granos pequeños dorado y rojizo (rojo pinto o calima), frijol de grano blanco (panamito), frijol Ucayalino (variedad de mayor preferencia) (FAO, 2018; Hermann, Amaya, Latournerie, & Castiñeiras, 2009; Voysest, 2000).

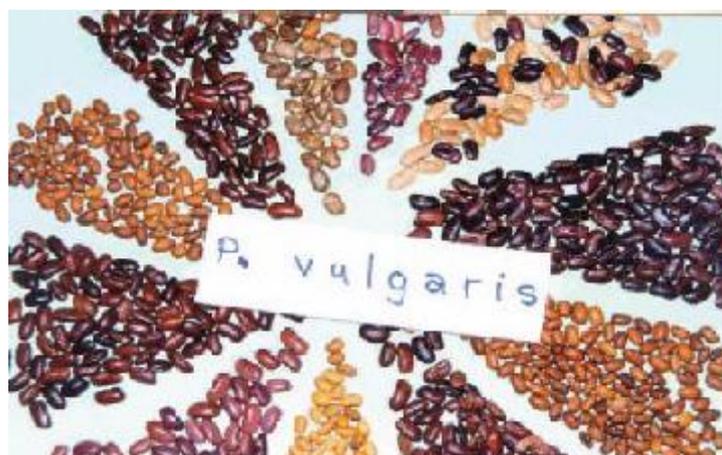


Figura 4. Diversidad de frijol común de la Amazonia central de Perú (Hermann et al., 2009).

Morales 2018, menciona que existe gran diversidad de colores en frijoles nativos, estos pueden tener granos de color uniforme, así como granos de dos colores y de tres o más colores, además pueden presentar pigmentos de un color diferente al predominante. En la figura 4, Diversidad de frijol común de la Amazonia central de Perú.

Amarillo Regional o Ucayalino

Este frijol también es llamado Huallaguino, Huascaporoto (Selva), se produce en la selva alta (San Martín y Ucayali), es el de mayor consumo en la región selvática. El grano de este frijol es característico de las variedades selváticas, en la figura 5 se observan las características de esta variedad: el color amarillo mostaza o rojizo, opaco, con hilum de color marrón, de forma elíptica llena, de mediano tamaño, cada 100 granos pesa de 25 – 35 gr, en cuanto a su calibre presentan 285 a 333 semillas por cada 100 gramos (Valladolid, 2001).



Figura 5. Frijol Ucayalino (Valladolid, 2001).

Alubia o frijol cápsula

Esta variedad se produce de manera limitada, la sierra norte: Áncash, Piura (y Cajamarca (Cajabamba, San Marcos, San Miguel, Santa Cruz). En la figura 6 se aprecian las características de esta variedad: color del grano es blanco lustroso y semibrillante, forma alargada cilíndrica con extremos agudos. De grano grande, cada 100 semilla pesa 45 a 75 g, su calibre es de 145 a 222 semillas por cada 100 g., también recibe el nombre de Frijol leche (Perú), Canellini (Europa), Larga selecta (España) y Horos (Turquía). Es comercializado en mercados costeros y locales (Valladolid, 2001).



Figura 6. Frijol Cápsula (Valladolid, 2001).

Bayo

Esta variedad también recibe el nombre de Frijol mochica, Bayo blanco. Su grano de frijol es grande (100 semillas pesan 45 a 55 g.), presenta una coloración café claro semibrillante, de forma redondeada, características que se observa en la figura 7. Su calibre es de 180 - 220 semillas por cada 100 g. en cuanto a su producción, se cultiva en la Costa (Lambayeque, La Libertad, Piura) y Sierra (Valles interandinos de Santa Cruz, Chota y Cajabamba). Se comercializa en mercados de los costeños porque tienen mejores precios (Valladolid, 2001).



Figura 7. Frijol Bayo (Valladolid, 2001).

Caraota

Es frijol de grano negro. Se le puede cultivar en costa (Lambayeque, La Libertad, Piura), sierra (Apuurímac, Cusco, en valles interandinos) y selva (San Martín, Ucayali). Actualmente se produce en áreas pequeñas de Apurímac y Cusco; es comercializado en supermercados. Las características del grano se aprecian en la figura 8: color negro intenso opaco o semibrillante, de forma elipsoidal semi-lleño, de tamaño pequeño (100 semillas pesan 20 a 25 g.), su calibre es de 400 a 500 semillas en 100 g. También recibe el nombre de Preto (Brasil), Black Turtle (Estados Unidos), Frijol negro (Perú) y Caraota negra (Venezuela) (Valladolid, 2001).



Figura 8. Frijol caraota (Valladolid, 2001).

Frijol ñuñas

Es una variedad de frijol para tostar por lo que es llamado reventón, entre sus nombres más comunes están “ñuña”, “apa”, “numia”, es un recurso genético nativo de la región andina desde el norte del Perú hasta Bolivia. Existe gran diversidad de “nuñas” en relación a su forma, coloración y tamaño (Pesantes, 2013). El Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) tiene registradas 305 entradas de ñuña, de las cuales 283 son peruanas y 22 Bolivianas (Cruz, Camarena, Baudoin, Huaranga, & Blas, 2009). En la figura 9, se presentan algunas variedades de ñuñas.

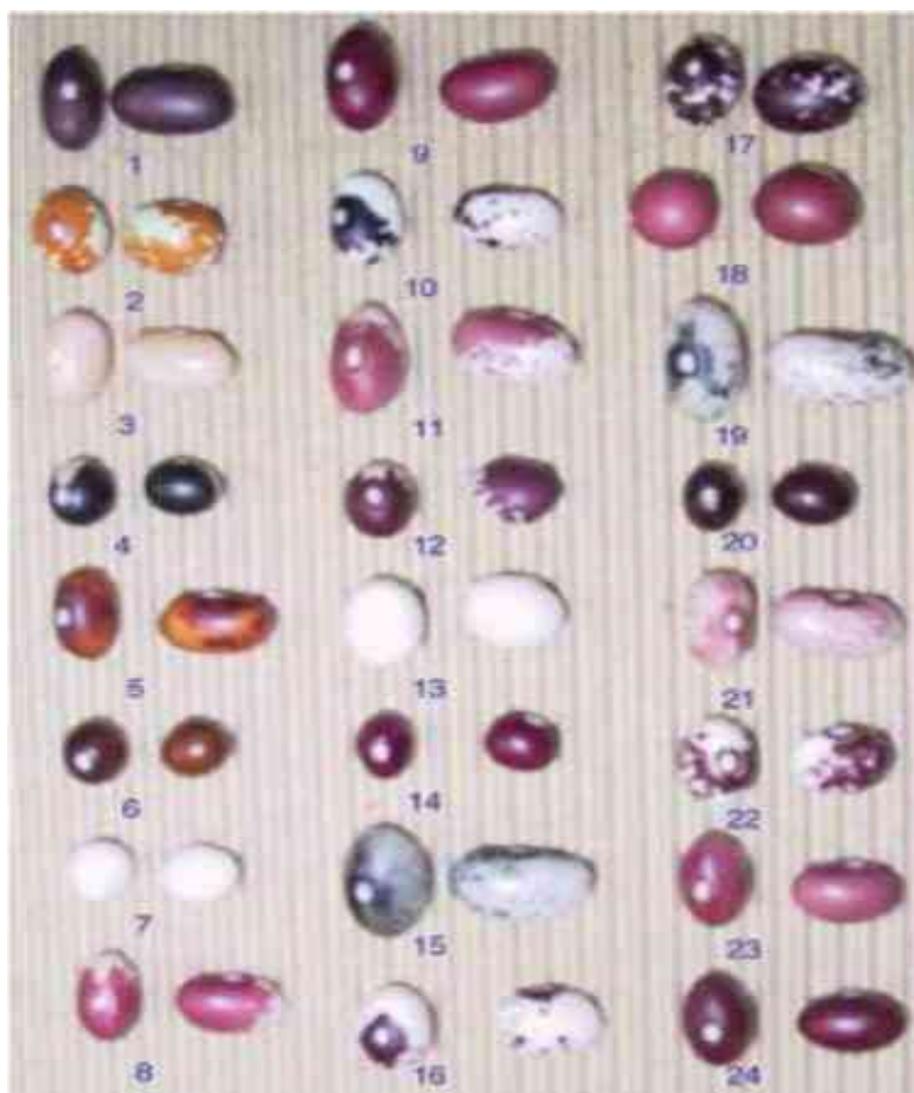


Figura 9. Variabilidad morfológica de los granos de las Ñuñas. 1. Morado; 2. Margarita Amarilla; 3. Ñuña (Yukishpa Runtun); 4. Vincha negra; 5. Gorrioncito; 6. Marrón claro; 7. Numia blanquilla; 8. Maleta (1); 9. Maleta (13); 10. Malcash negro; 11. Numia Margarita; 12. Numia color chispas; 13. Blanca nube; 14. Mullipa Murun; 15. Llatino marrón negro; 16. Paloma blanca; 17. Puka Hallcash; 18. Ladrillo zUpa-Cashapa Shapran; 19. Ñuña Huánuco; 20. Ñuña morado redondo; 21. Pechuy paloma; 22. Poroto G-8697; 23. Poroto G-8717; 24. Poroto G-7280. Cruz et al. (2009).

Ñuña pava

Este frijol también recibe el nombre de Pava, numia pava (Perú); Popping beans (Inglés). Se cultiva Sierra norte (Cajamarca, La Libertad, Ancash y Amazonas). El grano de este frijol es grande (100 semillas pesan 70 a 84 g.), de color ceniza o gris claro opaco con puntos en todo el grano y una mancha de color negro alrededor del hilum, de forma ovoide y de calibre 119 a 142 semillas en 100 g (Valladolid, 2001). en la figura 10 se observa el frijol Ñuña pava.



Figura 10. Frijol Ñuña pava (Valladolid, 2001).

Rojo arriñonado o Frijol Rojo

Frijol también conocido como Red kidney, Kidney (Inglés), Dark Red, .Morada larga (España). El grano de esta variedad es grande (100 semillas pesan 55 a 80 g.), de color Rojo oscuro semibrillante, con forma arriñonada alargada y de calibre 125 a 180 semillas en 100 g. en la figura 11, se observa el grano de frijol rojo. Se produce en la Sierra norte (Cajamarca y Ancash), Sierra centro (Huánuco y Junín), Sierra sur (Cusco, Apurímac, Ayacucho), Selva alta (Kosñipata y Huánuco). Es comercializado mercados locales y también con empresas exportadoras (Valladolid, 2001).



Figura 11 .Frijol rojo (Valladolid, 2001).

Rojo moteado

A este frijol también se le conoce como: Rojo pintado (Perú), Calima (Colombia), Large Red Mottled (Inglés). esta variedad se produce en zonas subtropicales en los departamentos de Madre de Dios y Huánuco. Su grano presenta una forma alargada arriñonada, de tamaño mediano a grande (100 semillas pesan 40 a 50 g.), de color rojo oscuro moteado de color crema semibrillante y de Calibre 200 a 250 semillas en 100 g (Valladolid, 2001). En la figura 12 se presenta el grano de frijol moteado.



Figura 12. Rojo moteado (Valladolid, 2001).

Producción.

En el Perú se produce 250 mil toneladas de legumbres, entre ellas frijol, el haba y la arveja quienes suman el 77% del total, La producción de frijol es el 29 % del total (72.500 toneladas). El consumo de legumbres es 7.5 kg por persona al año, cifra por inferior a la sugerida por OMS (9 kg por persona anualmente) (León, 2020).

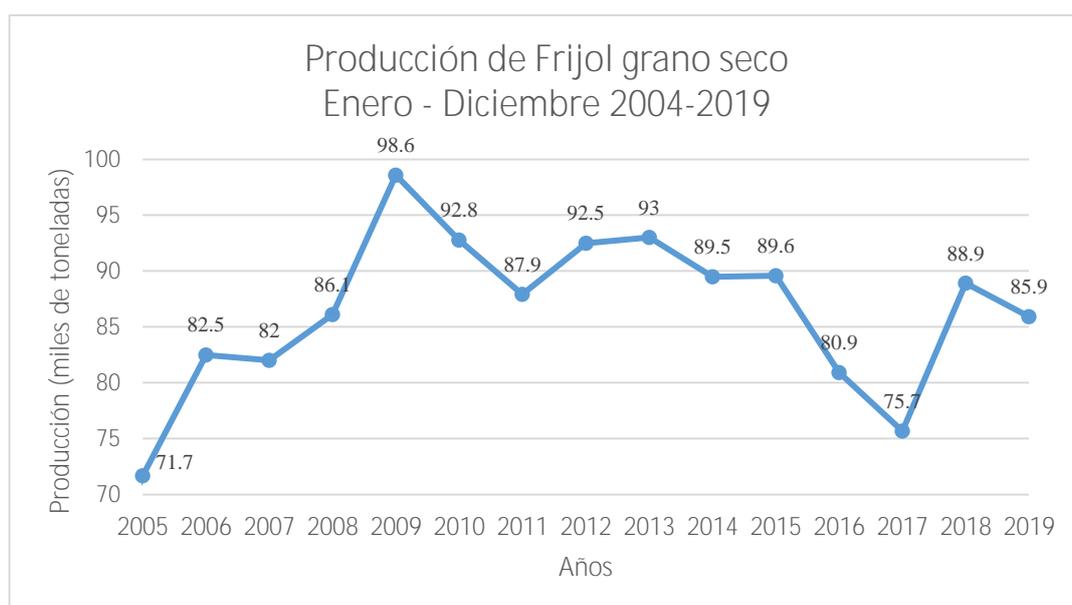


Figura 13 . Producción de Frijol grano seco Enero - Diciembre 2004-2019 (Santamaría et al., 2020).

En nuestro país, la producción de frijol grano seco durante el periodo Enero – Diciembre, ha variado constantemente los últimos 15 años, en la figura 14 se presenta la evolución anual de la producción de frijol seco, en el año 2005 la producción nacional llegó a los 71,7 mil toneladas, en 2009 aumentó a los 98.6 mil toneladas, el 2017 se redujo a 75,7 mil toneladas y el año 2019 logró producir 85.9 mil toneladas de frijol.

Beneficios.

Yang et al. (2018), refiere que existen estudios que indican los extractos comunes de frijoles ricos en polifenoles muestran efectos antiinflamatorios, antioxidantes, antimutagénicos, quimiopreventivos y antibacterianos, por ello los frijoles comunes como componente dietético posee considerables beneficios para la salud.

La fibra del frijol ayuda a la reducción del colesterol en sangre y favorece al tránsito intestinal; por otro lado se atribuye propiedades antioxidantes a algunos Polifenoles presentes en los granos de frijol (Iniestra-González et al., 2005).

Usos.

Quispe (2008), refiere que los principales usos del frijol son como grano seco, enlatado, chaucha y grano verde. El frijol nuña se suele preparar frito, guisado o tostadas (como palomitas), por su alto contenido de proteínas en el algunas zonas peruanas se elabora leche de nuña, también se prepara galletas con 20% de harina de nuñas (Castillo 2013).

2.2.2. *Cajanus cajan* (Frijol de palo)

La especie *Cajanus cajan* (L.) Huth pertenece a la familia de las leguminosas, la subfamilia Faboideae (Papilionoideae), la tribu Phaseoleae y la subtribu Cajaninae (FAO, 2018).

Sinónimos: *Cajan inodorum* Medik., *Cajanus bicolor* DC., *Cajanus cajan* var. *Flavus*, *Cajanus flavus* DC., *Cajanus indicus* Spreng, *Cajanus indicus* var. *maculatus* Kuntze, *Cajanus luteus* (Lim, 2012).

Nombres comunes: Cachito, Frejol De Palo, Frijol Del Monte, Fríjol De Árbol, Frijol De La India, Frijol Guandul, Frijol Quinchancho. Guando, Guisante de Paloma (Argentina); “guando” (Brasil); frijol de árbol (México); frijol de palo (Perú); Gandú (Ecuador); cumandai (Paraguay); quinchoncho (Venezuela); Gandule (Puerto Rico); Gandua, Gandul (Cuba); Red gram (India); Angola pea, Pigeon pea (Inglés) (Lim, 2012).

En el norte del Perú, también recibe el nombre de “Lenteja de palo”; en la selva “Pushpo” y en la costa central lo llaman “Chivatito”. Su grano es crema o gris claro, jaspeado de gris o marón, con hilum abierto y pronunciado, es mediano globoso, 100 semillas pesan 16 a 22 g., el calibre es de 454 a 625 semillas por 100 g. se produce en la Costa norte (desde Chepén hasta Piura) y Selva alta (San Martín, Ucayali). Se consume en vainas verdes y granos secos (Valladolid, 2001). En la figura 13 se muestra el grano de frijol de palo.



Figura 14. Frijol de palo (Valladolid, 2001).

El grano del frijol de palo es empleada en la alimentación humana y animal, se consume fresco o seco, en distintas preparaciones (guisos, sopas y al vapor), también se procesa para obtener harina de este frijol (Aliaga, 2019).

2.2.3. Antioxidantes

Un antioxidante es una sustancia, capaz de inhibir la oxidación de un sustrato, cuando está presente en una concentración menor a la del sustrato oxidable en el medio (Granato et al., 2018). Rompe la cadena de reacciones de los radicales libres sacrificando sus propios electrones para alimentar a los radicales libres, sin convertirse ellos mismos en radicales libres. Los

antioxidantes son la forma natural de defender las células contra el ataque de ROS (Dontha, 2016).

Un antioxidante dietético, es una sustancia obtenida de matrices alimentarias y son capaces de prevenir los efectos negativos de los radicales libres, contribuyendo a la prevención de muchas (Vicente, 2017).

2.2.4. Polifenoles

Se conocen más de 8000 compuestos polifenólicos de varias especies de plantas, algunas de las cuales se encuentran en los frutos de plantas. La mayoría de los fenoles vegetales se originan a partir de un intermedio común como la fenilalanina o un precursor distinto como el ácido shikímico. Las formas más comunes se conjugan con alteraciones estructurales (hidroxilación, metoxilación y glicosilación). Los polifenoles en los alimentos adquieren rasgos característicos como amargor, astringencia, color, sabor y olor (Kesavan et al., 2018).

“El término “polifenol” debe usarse para definir los metabolitos secundarios de las plantas derivados exclusivamente del fenilpropanoide derivado del shikimato y / o la (s) vía (s) de policétidos, que presentan más de un anillo fenólico y estar desprovisto de cualquier grupo funcional a base de nitrógeno en su expresión estructural más básica" (Belš ak-Cvitanovi , Durgo, Hu ek, Ba un-Družina, & Komes, 2018).

Ghani (2020), menciona que los polifenoles son una clase diversa de metabolitos secundarios que presentan una gran variedad de actividades biológicas, como la actividad antioxidante, antiinflamatorias, antihipertensivas e inhibidoras de la α -glucosidasa. Estos metabolitos se encuentran en abundancia en las plantas, principalmente en las capas externas de tejido vegetal y en semillas.

Los compuestos fenólicos pueden ejercer beneficios para la salud (anticancerígeno, antioxidante y antiinflamatorio) a nivel local, cuando actúan directamente durante el paso por el tracto gastrointestinal, así como a nivel sistémico. Pueden prevenir patologías crónicas (diabetes, obesidad, enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas) (Nazzaro et al., 2020).

Clasificación

Los polifenoles se pueden clasificar de acuerdo a la disposición, el número de anillos de fenol presentes y la adición de grupos funcionales al fenol. La clasificación primaria de los polifenoles son los flavonoides, los ácidos fenólicos, los estilbenos, xantonas y los lignanos. Los polifenoles más complejos incluyen taninos condensados e hidrolizables, que interactúan fuertemente con las proteínas (Kesavan et al., 2018; Weber & Passon, 2019). En la tabla 15, se muestra la clasificación de los polifenoles.

Los ácidos fenólicos se pueden subdividir en ácidos hidroxibenzoicos (por ejemplo, ácido gálico, protocatecuico, salicílico, siríngico y p-hidroxibenzoico) y ácidos hidroxicinámicos como los ácidos cafeico, p-cumárico, sináptico y ferúlico. Dentro de los flavonoides, hay seis subgrupos principales, que son los flavonoides, flavonoles, flavonas, flavanonas, antocianinas e isoflavonas, de estos solo las antocianinas están intensamente coloreadas, con un máximo de absorción alrededor de 520 nm. Los otros flavonoides son incoloros o ligeramente amarillos (Weber & Passon, 2019).

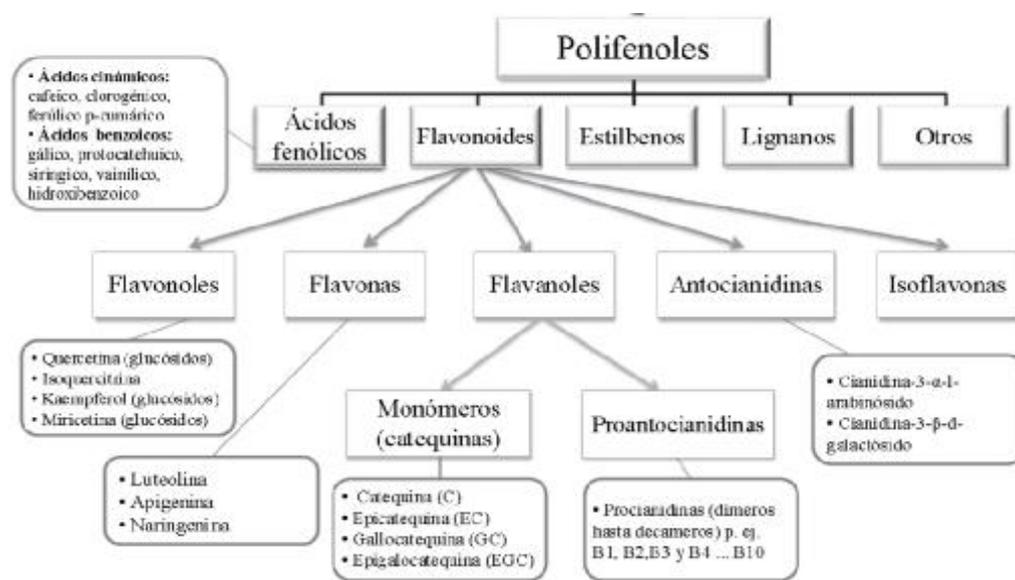


Figura 15. Clasificación de Polifenoles, Belš ak-Cvitanovi et al. (2018)

Las xantonas muestran una estructura C₆-C₁-C₆ y se han encontrado, entre otros, en mango y mangostán. Los estilbenos constan de un esqueleto C₆-C₂-C₆ y se producen en varias plantas como metabolitos del estrés, las llamadas fitoalexinas. En la dieta humana, representantes como el resveratrol y su glucósido polidatina (o piceid) se encuentran principalmente en las uvas y

los cacahuets. La estructura básica de los lignanos consta de dos unidades de fenilpropano (C6-C3) (Weber & Passon, 2019)

2.2.5. Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante total de un alimento es más que la suma de capacidades antioxidantes de cada componente del alimento, ya que se ve influenciada por el microambiente en el que se encuentra (composición lipídica, concentración, temperatura, presión de oxígeno, la presencia de otros antioxidantes y componentes). Así mismo las interacciones entre los antioxidantes individuales pueden presentar efectos sinérgicos o antagónicos en la capacidad antioxidante total (Adatao, 2012; Vicente, 2017).

Métodos

Granato et al. (2018), menciona que los antioxidantes pueden neutralizar la acción de los radicales libres mediante tres mecanismos: transferencia de átomo de hidrógeno (HAT), transferencia de un solo electrón (SET) y la capacidad de quelar los metales de transición.

Ensayos basados en HAT mide la capacidad de un antioxidante para apagar los radicales libres mediante donación de hidrógeno estabilizando el radical peroxilo. Estos ensayos son independientes no dependen del pH y ni del solvente, por lo general son reacciones rápidas (segundos o minutos). La mayoría de estos ensayos el antioxidante y el sustrato empleados para el ensayo compiten por los radicales peroxilo generados térmicamente, la magnitud de la reducción de la señal (fluorescencia) presenta una correlación inversa con la capacidad antioxidante de la muestra (Dasgupta & Klein, 2014).

En los ensayos basados en SET, la capacidad de un antioxidante se mide por su capacidad para transferir un electrón para reducir cualquier compuesto (radicales libres, carbonilos o iones metálicos), los antioxidantes reaccionan con un agente oxidante. Los ensayos espectrofotométricos miden la capacidad de reducir un oxidante, que cambia de color cuando se reduce. El nivel de cambio de coloración esta correlacionada con la concentración de antioxidantes en la muestra (Moharram & Youssef, 2014). En la tabla 2, se presenta métodos para evaluar la capacidad antioxidante.

Tabla 2

Los métodos para evaluar la actividad antioxidante basados en HAT y ET

Ensayo	Radical /Cromoforo	Modo de ensayo
Ensayos basado en HAT		
ORAC	AAPH. (Fluoresceína)	Medición de la caída de la fluorescencia
Parámetro antioxidante total de radicales peroxilo (TRAP)	AAPH. (R-ficoeritrina / luminol)	Medición de la caída de la fluorescencia
Ensayo de blanqueamiento con caroteno	radicales peroxilo, ROO	Medida de absorbancia
Ensayo de blanqueamiento con crocina	Radicales peroxilo, ROO.	Medida de absorbancia
Ensayo de inhibición de la peroxidación de lípidos	N-metil-2-fenilindol	Medida de absorbancia
Capacidad de evitar radicales hidroxilo (ensayo HORAC)	HO. (ácido p-hidroxibenzoico) fluoresceína	Medición de la caída de la fluorescencia
Ensayo basado en ET		
Contenido fenólico total	Mo ⁶⁺ (amarillo) Mo ⁵⁺ (azul)	Medida de absorbancia
Ensayo FRAP (reductor de iones férricos)	Iones Fe ³⁺ quelados	Medida de absorbancia
DPPH	DPPH.	Medida de absorbancia
Capacidad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC)	ABTS. +	Medida de absorbancia
CUPRAC	Cu ²⁺ Cu ⁺	Medida de absorbancia
CERAC	Ce ⁴⁺ Ce ³⁺	Medición de la caída de la fluorescencia
Ensayo quelante de iones Fe ²⁺	Complejo de ferrozina-Fe ²⁺	Medida de absorbancia
Actividad de eliminación de radicales libres de óxido nítrico	Reactivo de Griess	Medida de absorbancia
Poder reductor de ferricianuro de potasio	Fe ³⁺ Fe ²⁺	Medida de absorbancia
Sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico (TBARS)	Aducto MDA-TBA	Medida de absorbancia
N, N-dimetilfenilendiamina DMPD	DMPD. + (Morado)	Medida de absorbancia
Ensayo de fotoquimioluminiscencia	O ²⁻ (Usando Luminol)	Quimioluminiscencia

Nota. Adaptado de Shahdi (2015).

Método QUENCHER

El procedimiento QUENCHER (RÁPIDO, Fácil, Nuevo, BARATO y Reproducible) se desarrolló con la finalidad de evaluar la capacidad antioxidante de alimentos sólidos, sin una extracción previa. Permitiendo la posibilidad de evaluar la actividad de los antioxidantes atrapada en la matriz alimentaria, ya que cualquier procedimiento de extracción genera una fracción insoluble que debe ser considerado (Delgado, Conde, Haro, Pastoriza y Rufián, 2010; Oh et al., 2016)

La metodología se basa en una interacción entre una matriz sólida y una sonda de radicales que contiene cromóforo líquido. Con el radical en solución pueden darse dos tipos de reacción: I- reacción de tipo líquido-líquido con el resto soluble de la muestra; II - reacción en sólido-líquido interactúan con los antioxidantes unidos a la fracción de polisacárido insoluble. La reacción está influenciada por el área de superficie total, lo que mejora el contacto entre los reactivos y aumenta el número de colisiones (Samayoa, 2010).

Laus et al. (2015) refiere que este procedimiento se ha aplicado con éxito a algunos alimentos donde la actividad antioxidante depende en gran medida de la parte insoluble como diversos cereales, cereales integrales y algunas fracciones de molienda, obteniéndose valores más elevados de capacidad antioxidante comparada con otros métodos dependientes de extracción. Este ensayo ha demostrado ser adecuado para evaluar la capacidad antioxidante de alimentos procesados térmicamente (productos fritos, productos de panadería, legumbres tostadas, frutos secos y semillas, cereales para el desayuno, muestras de carne cruda y cocida). También se aplicó a frutas y verduras, cubiertas de semillas de soja y frijoles descascarados.

Se requiere pocos pasos para realizar este procedimiento, solo los alimentos con alto contenido necesitan pretratamiento (para remover el agua), luego se debe reducir de tamaño (moler hasta obtener partículas de 0,1-0,3 mm), en caso las muestras tengan alta capacidad antioxidante es necesario diluirlas en seco con celulosa en polvo, después se mezclan las muestras con la solución de radicales, dejando pasar el tiempo necesario para el contacto de los restos reactivos, la muestra debe centrifugarse y finalmente se mide la absorbancia del sobrenadante ópticamente transparente (Samayoa, 2010).

Del Pino, García, Rivero, González y Muñiz (2015), menciona que varias de las metodologías de capacidad antioxidante total de uso frecuente ABTS, DPPH, ORAC, FRAP, CUPRAC y Folin – Ciocalteu se han adaptado al enfoque QUENCHER.

2.3. Definiciones conceptuales

- **Frijol:** Legumbre de características diversas, cada vaina puede contener entre 4 a 6 semillas. Sus frutos pueden presentar colores como verde, amarillo, marrón o rojo sobre verde, etc.
- **Capacidad antioxidante:** Las reacciones químicas de los radicales libres se dan constantemente en las células de nuestro cuerpo y son necesarias para la salud, pero el proceso debe ser controlado con una adecuada protección antioxidante.
- **Compuestos fenólicos:** son un grupo heterogéneo de productos con más de 10.000 compuestos. Algunos son solubles en solventes orgánicos, otros son glucósidos o ácidos carboxílicos.
- **Molienda:** Proceso que consiste en comprimir el tamaño del grano a través de molinos de tipo rodillo consiguiendo una separación de la cáscara hasta obtener una harina.

2.4. Formulación de Hipótesis

2.4.1. Hipótesis General

Se determina la capacidad antioxidante total y el contenido de polifenoles totales en los frijoles *Phaseolus vulgaris* cultivados en el Perú.

2.4.2. Hipótesis Específicas

- Se determina la capacidad antioxidante total en frijoles *Phaseolus vulgaris* cultivados en el Perú.
- Se cuantifica el contenido de polifenoles totales en frijoles *Phaseolus vulgaris* cultivados en el Perú.

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1. Diseño Metodológico

3.1.1. Ubicación

Esta investigación se llevará a cabo en el Laboratorio de Procesos e Ingeniería de Alimentos, donde está instalado el proyecto de investigación modalidad FOCAM: “Formulación de bebidas funcionales con capacidad antioxidante a base de frutas y verduras”.

En las instalaciones de la Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión, está ubicado en la ciudad de Huacho-Perú.

3.1.2. Tipo de Investigación

Esta investigación es de tipo experimental, transversal y responde al carácter Cuantitativo, porque se realiza mediante la observación, registró y análisis de las variables y el estudio de los datos se basa en la cuantificación y cálculo de los mismos.

3.1.3. Nivel de Investigación

El nivel de investigación es descriptivo, explicativo y correlacional, ya que se pretende determinar el grado de relación entre el color de 12 variedades de frijol con su contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante.

3.1.4. Diseño Experimental

Para alcanzar los objetivos de este estudio, se estableció el siguiente diseño metodológico, el cual se aprecia en la figura 16. La cual se divide en dos fases:

3.1.5. Tratamientos

Fase 1: Medición del color y humedad de los granos de frijol

Se recolectaron granos de frijol de 12 variedades con diferentes coloraciones, se midió el color con un colorímetro triestímulo, se molieron las muestras hasta un tamaño de 50 micras y se determinó su porcentaje de humedad.

Fase 2: Determinación de la capacidad antioxidante total y Polifenoles totales de los granos de frijol

En esta fase se procedió a determinar la capacidad antioxidante total de los granos de frijol molidos por el método directo DPPH-Quencher, con el método tradicional DPPH extractable y ABTS extractable, las mediciones fue empleando un lector de microplaca en el modo absorbancia a 520 nm para el método DPPH 734 nm respectivamente. Los Polifenoles se determinaron por el método Folin-Ciocalteu a una absorbancia de 765 nm.

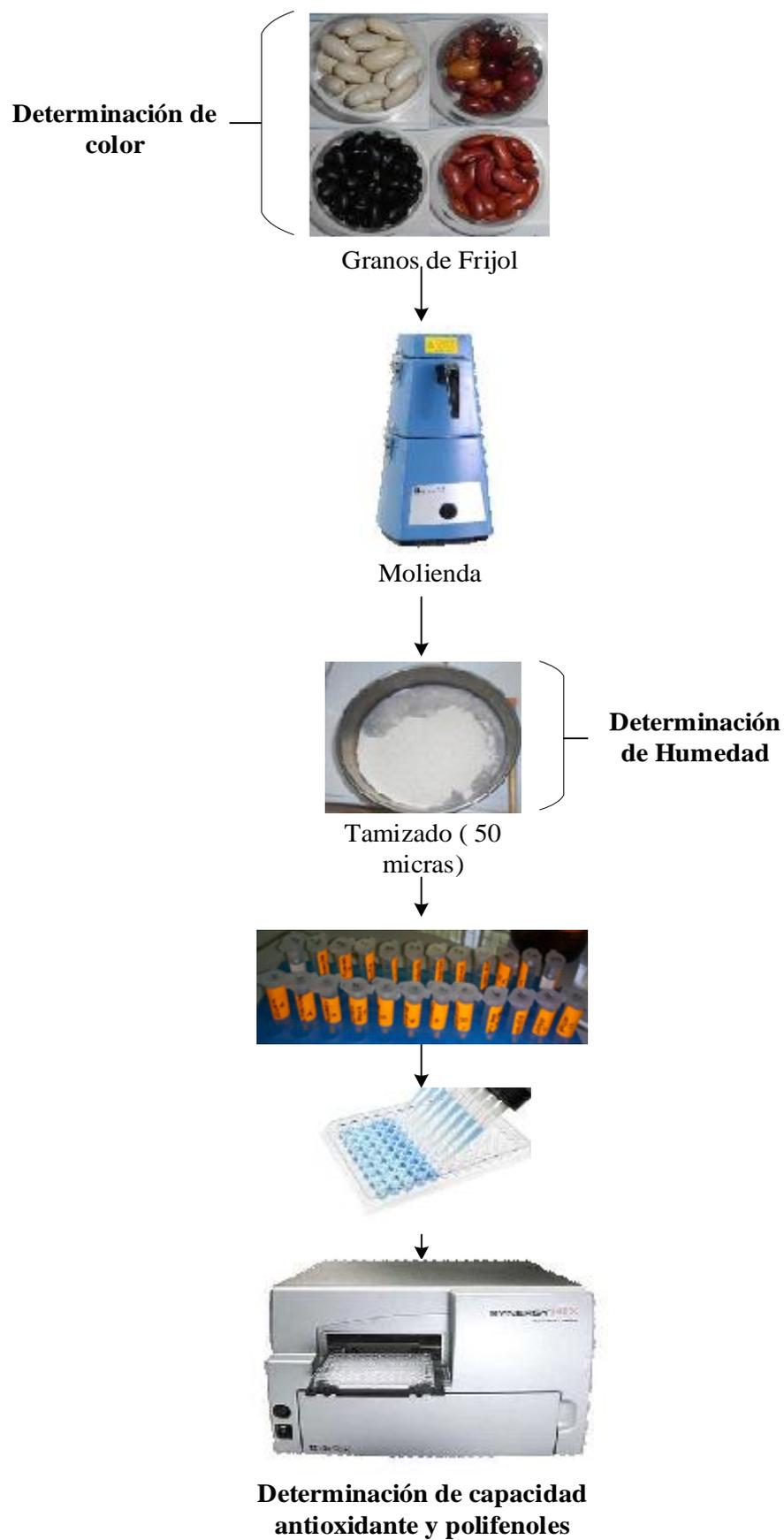


Figura 16. Esquema del proceso experimental de la investigación.

3.1.6. Enfoque

La investigación tendrá un enfoque mixto, experimental porque se trabajará tanto con teorías como con datos estadísticos los cuales generarán resultados que facilitarán determinar la capacidad antioxidante total y el contenido de polifenoles totales en 12 variedades de frijoles cultivados en el Perú.

3.2. Población y Muestra

3.2.1. Población

La población está conformada de 12 variedades de frijoles más consumidos en el Perú, 11 de los cuales pertenecen a la familia *Phaseolus vulgaris* y la otra a *Cajanus cajan*, los que fueron recolectados del gran mercado mayorista, ubicado en Santa Anita 15011, Lima-Perú.

3.2.2. Muestra

La muestra son los granos de frijol de 12 variedades, para este estudio se empleó ½ kg de cada variedad frijol. Las variedades en estudios son: Ñuña margarita, Ñuña pava, Nuña margarita, Calima, Rojo arriñonado, Ckamitaki, Capsula, Ucayalino, Renkino orgánico, Pusac puncuy orgánico, Caraota, bayo y Palo (*Cajanus cajan*).

3.3. Operacionalización de Variables e indicadores

En la tabla 3, se presentas las variables operacionales de la investigación, con sus respectivas dimensiones, indicadores instrumentos de medición y unidades de medida.

Tabla 3

Operacionalización de las variables e indicadores del estudio

	Variab l es	Dimensiones	Indicadores	Instrumento de medición	Unidad de medida
V.I	Color	luminosidad	Índice de color	Colorímetro	
	Variedad	Características	Humedad	Estufa	%
V.D	Capacidad Antioxidante total	Capacidad anti radical	-DPPH Quencher	Lector microplacas	Umol/g
			-DPPH Extractable	Lector microplacas	Umol/g IC50
			-ABTS+	Lector microplacas	TEAC
	Polifenoles Totales	Contenido polifenoles	Folin-Ciocalteu	Lector microplacas	Mg EAG/g

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

3.4.1. Técnicas a emplear

Obtención de la harina del frijol

En la figura 17, se presenta el diagrama de flujo de la extracción de la harina de frijol para su posterior análisis.

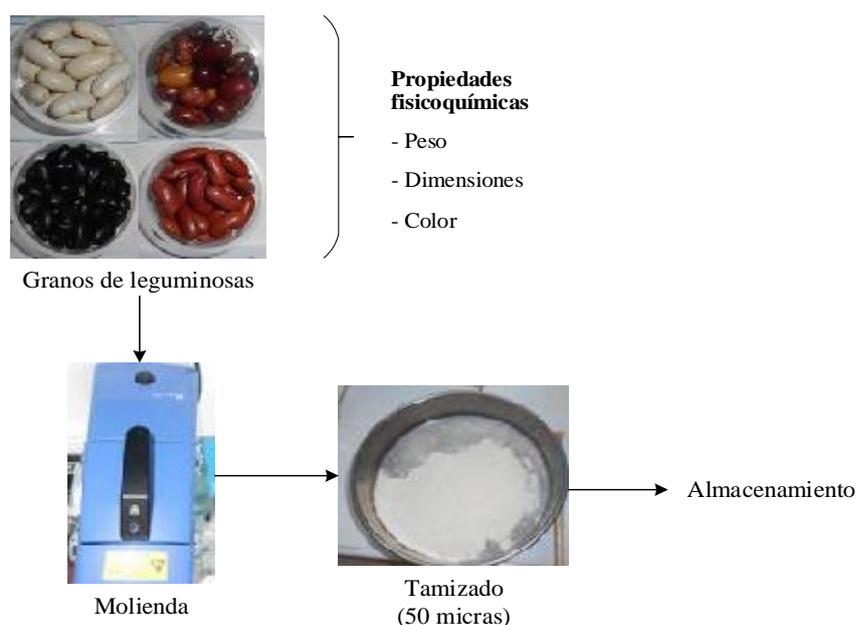


Figura 17. Diagrama de flujo de la obtención de harina de frijol.

Determinación del Color de granos de frijol

Aunque sensorialmente se puede apreciar su color de los granos de frijol, cuantitativamente se puede medir con la ayuda de un colorímetro.

Para determinar el color de los granos enteros de frijol, se empleó un colorímetro CR-400 (Konica Minolta Inc., Japón), primero se calibro el colorímetro con una placa blanca estándar de cerámica con un iluminante C y un observador 2 °, se colocaron las muestras de frijol en un disco de vidrio óptico (40 mm de diámetro), se midió los parámetros de color CIEL*a*b* según lo expuesto por (Mathias-Rettig & Ah-Hen, 2014), se empleó el software OnColor QC. En la figura 18, se observa el diagrama para determinar el color en la muestra de frijol.

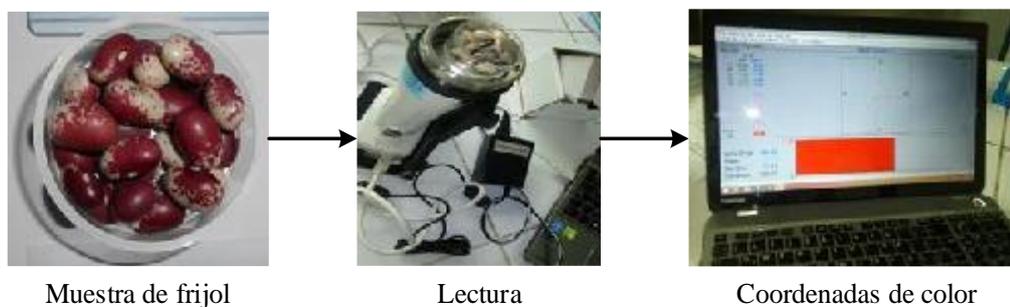


Figura 18. Determinación de color de grano de frijol.

Determinación de la humedad por el método gravimétrico (AOAC 925.09)

Fundamento: El método utilizado se basa en la determinación gravimétrica de la pérdida de masa de la muestra desecada hasta masa constante en estufa de aire.

Este método consiste en llevar 1 gramo de muestra (frijol molido) en una luna reloj previamente pesados en una balanza analítica, se llevar las lunas de reloj a estufa al vacío por 8 horas 103 ± 2 °C. Retirar de la estufa, tapar, enfriar en desecador y pesar tan pronto como se equilibre con la temperatura ambiente. Repetir la operación hasta peso constante, calcular el porcentaje de humedad mediante formula. El contenido en agua de la muestra se calculó por diferencia de peso y se expresa en % de humedad (g de H₂O/100 g de muestra):

$$\% = \frac{(\text{Peso de la muestra seca} + \text{Peso de la muestra húmeda}) - (\text{Peso de la muestra húmeda})}{\text{Peso de la muestra húmeda}} \cdot 100$$

En la figura 19, se observa la determinación de Humedad de grano de frijol por método gravimétrico.

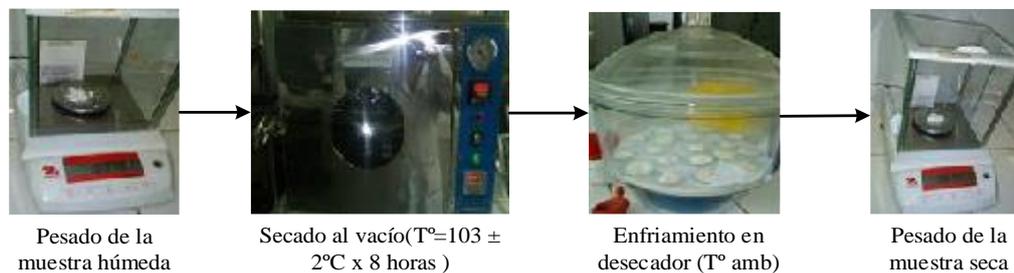


Figura 19. Determinación de Humedad de grano de frijol por método gravimétrico.

3.4.2. Determinación de capacidad antioxidante total

Método directo DPPH-Quencher

El método QUENCHER (QUICK, Easy, New, CHEap y Reproducible) es un ensayo directo (no requiere extracción con solventes) que se basa en la reacción sólido- líquido, permitiendo la cuantificación de antioxidantes solubles y/o insolubles la evaluación de capacidad antioxidante total de los granos. Para la capacidad antioxidante por el método directo QUENCHER se seguirá lo propuesto por Condezo, Abderrahim, Arriba y González (2015), donde resumidamente se pesara 1 mg harina de frijol y se mezclará con 1 mL de DPPH, se agita con un agitador orbital a 200 rpm por 10 minutos a temperatura ambiente bajo condiciones de oscuridad (cubrir muestras papel aluminio). Luego las muestras son centrifugadas a 3500 g durante 10 minutos a temperatura ambiente (HERMLE, Z216 MK, Labortechnik GmbH, Wehingen, Alemania), se transfirieren 200 uL de los sobrenadantes a cada pocillo de la microplaca de 96 pocillos. La absorbancia se midió a 520 nm empleando un lector de microplacas Synergy HTX Multi-Modal. La capacidad antioxidante total se calcula como índice de capacidad de secuestro (SCI) y se expresará en mMol DPPH inhibido/ Kg de harina de frijol, ver el protocolo en anexo 1.

Método de extracción

Para los métodos de cuantificación de capacidad antioxidante ABTS+ y DPPH, se requiere una extracción previa de los antioxidantes presentes en las

muestras. Para ello, la harina de frijol (muestras) se tratan con ácido (HCl) metanol/agua (50:50, v/v, pH 2), se agitan a temperatura ambiente en un vortex a máxima velocidad por 10 minutos cubriendo las muestras de la luz, luego fue centrifugado a 10000 rpm por 10 minutos a una temperatura de 4°C. Para la segunda extracción primero se separan los sobrenadantes, luego se empleó una solución extractante de Acetona / agua (70:30, v/v) y se realizaron los pasos de la primera extracción. Finalmente se mezclan los ambos sobrenadantes en la misma proporción y se almacenan a -40°C, hasta el análisis, ver el protocolo en anexo 2).

Método DPPH – extractable

Este método es uno de los más utilizados para determinar capacidad antioxidante, descrito por Brand-William et al (1995), este método posee muchas variaciones, entre ellas el descrito por Abderrahim, et al. (2015). Donde las muestras pasan por un proceso de extracción. Dichos extractos de frijol (10 µL) y el blanco control son colocados en la microplaca por triplicado y son mezclados con 200 µL de DPPH, se incuba durante 10 minutos a temperatura ambiente, finalmente se midió la absorbancia a 520 nm con un lector de microplacas.

La capacidad antioxidante por este método se calculó como índice de capacidad de secuestro (SCI) y se expresó en mMol DPPH inhibido/Kg peso fresco de frijol, ver el protocolo en anexo 3.

Método ABTS +

Este método mide el TEAC y fue empleado en un inicio por Re et al. (1999), presenta diversas modificaciones y puede aplicarse en granos según Aviña et al (2016). Se preparó la solución de trabajo se realizó una dilución del ABTS+ (7 mMol) en Buffer fosfato (5 mMol) hasta obtener una absorbancia de $0,7 \pm 0,2$ a una longitud de ondas 734 nm.

Para la curva patrón se pesó 0.00050g de trolox diluyendo en 2 mL de solución buffer fosfato (5 mMol), luego se prepararon diluciones con rangos

de concentración seriadas de 750, 500, 375, 250, 187.5, 125 y 62.5 μM , con el fin de realizar la curva de referencia. Para las mediciones se toman 10 μL de muestra diluida en Buffer Fosfato y son colocados en la microplaca por triplicado y se añaden 100 μL de la solución de trabajo de ABTS+, se lee a una longitud de onda de 734 nm con un lector de microplacas, los resultados se expresan TEAC en μMol Equivalente Trolox/g de harina de frijol, ver el protocolo en anexo 4.

3.4.3. Determinación de polifenoles

El análisis se realizó conforme a la reacción colorimétrica de Folin-Ciocalteu, se basa en que los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu, a pH básico, dando lugar a una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 760 nm, siguiendo la metodología propuesta por Magalhães et al. (2010) empleando una microplacas de 96 pocillos y lectora multimodal, los análisis se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron en mg de Acido gálico equivalentes/g, ver el protocolo en anexo 5.

3.4.4. Descripción de instrumentos

Materias primas e insumos

- 12 variedades de frijol

Reactivos

- 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), Marca Sigma-Aldrich.
- Metanol, para análisis, ACS, ISO, Reag. Ph Eur, 99.9 %.
- Tris base, (Trisma base), 99 %. Marca Sigma-Aldrich.
- Agua grado ultra pura,
- Ácido Hidroclorhidrico, marca Merck, España.
- Acetona, para análisis, EMSURE™, Marca Merck, España.
- ABTS+
- AAPH
- Acido gálico (anhidro para síntesis- Merck),

- Reactivo del fenol según Folin-Ciocalteu (Merck)
- Buffer fosfato 75 mM
- NaOH
- Trolox (ácido 6-hidroxi-2, 5, 7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico) 1 mM (98.1%- Merck).

Equipos

- Balanza analítica
- Centrifuga universal (MPW-251 Med. Instruments)
- Refrigeradora
- Congelador
- Agita tubos (VM-300 Vortex Mixer)
- Lector de microplaca (Synergy HTX Multi-Modal, Marca Biotek)
- Molino pulverizador, marca IKA, M20, Alemania
- Colorímetro manual, CR-400, marca Konica Minolta Inc., Japón
- Microcentrifuga Refrigerada, Marca Hermle, Labor Technik GmbH, Wehingen, Alemania.
- Estufa al vacío
- Desecador

Materiales

- Placa petri circular para colorímetro (40 mm de diámetro)
- Tamiz de 50 micrones, Gilson, USA
- Microtubos de 2.0 mL (tipo Eppendorf)
- Tubos de centrifuga de 15, 50 ml (Falcón)
- Vasos de vidrio pirex volúmenes 5,10,25,50 y 100 ml
- Micropipeta de 100-1200 μ L, 2-200 μ L y 10-20 μ L
- Microplacas de 96 pocillos
- Espátula
- Pizetas
- Papel aluminio
- Bolsas herméticas de cierre zip
- Recipientes plásticos y vidrio

3.5. Técnicas para el procesamiento de la información

Para el análisis de datos, se utilizó el análisis estadístico Prueba de Tukey, desviación estándar, coeficiente de variabilidad, Análisis de Componentes Principales PCA, utilizando programas de cálculo Microsoft Excel, MINITAB y también se empleó el Software del equipo lector de microplaca multimodal, GEN5. Para la presentación de resultados se utilizaron gráficos lineales, diagramas de resultados por análisis.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

4.1. Caracterización fisicoquímica de los frijoles

Los resultados de humedad y color por el método triestímulo con el colorímetro CR-400 (coordenadas CIEL*a*b*).de las diferentes variedades de frijol, se pueden apreciar en la tabla 4.

Tabla 4

Humedad y parámetros de color (CR-400) en grano de frijol

Muestra de Frijol	Humedad Porcentaje	Parámetros de color CIELAB		
		L*	a*	b*
Capsula	9,36 ±0,93	70,38 ±1,53	1,06 ±0,29	9,20 ±0,47
Palo	8,97 ±0,23	50,34 ±1,55	4,59 ±1,38	15,78 ±0,49
Bayo	6,47 ±0,23	63,00 ±2,88	3,57 ±0,12	12,28 ±0,71
Ñuña margarita	7,44 ±0,44	37,84 ±2,40	13,21 ±1,87	1,65 ±0,19
Ucayalino	8,23 ±0,21	45,54 ±1,51	13,02 ±1,22	9,32 ±1,37
Ckamitaki	8,76 ±0,27	41,26 ±1,71	18,08 ±0,69	7,96 ±1,84
Ñuña pava	6,15 ±0,07	37,84 ±2,40	13,21 ±1,87	1,65 ±0,19
Camila	8,45 ±0,24	38,46 ±2,59	14,61 ±1,37	2,05 ±1,36
Pusac puncuy	7,09 ±0,08	43,30 ±7,51	9,88 ±4,21	15,17 ±1,88
Renkino	8,10 ±0,67	31,81 ±0,83	12,70 ±1,11	2,85 ±0,37
Rojo arriñonado	8,62 ±0,73	32,42 ±1,15	10,06 ±1,25	0,71 ±0,27
Caraota	9,78 ±0,50	34,18 ±0,83	0,80 ±0,11	-1,38 ±0,03

En la tabla 5, se puede apreciar la fotografía de cada muestra de frijol que fueron empleadas para la investigación.

Tabla 5

Fotografías de las muestras de granos de frijol

MUESTRA FREJOL	FOTOGRAFÍA	MUESTRA FREJOL	FOTOGRAFÍA
Capsula		Ñuña margarita	
Palo		Calima	
Bayo		Pusac puncuy	
Ñuña pava		Renkino	
Ucayalino		Rojo arriñonado	
Ckamitaki		Caraota	

4.2. Determinación de la capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante de las variedades de frijol se determinó empleando los métodos DPPH y ABTS+.

Método DPPH

La capacidad antioxidante por este método se determinó de dos formas, mediante en el método DPPH tradicional (DPPH extractable) expresado en uMol DPPH inhibido/g de semilla; y el método directo DPPH-Quencher (sin extracción) es expresado en uMol DPPH inhibido/g de semilla. En la tabla 6 se presentan los resultados de DPPH-extractable y DPPH-Quencher.

Tabla 6

Capacidad Antioxidante en las variedades de frijol método DPPH

Muestra de Frijol	DPPH Extractable	DPPH Quencher
	uMol/g	uMol/g
Capsula	5,08 ±0,23f	8,20 ±0,58i
Palo	12,10 ±1,57e	50,81 ±5,25b
Bayo	8,34 ±0,09f	22,42 ±1,93h
Ñuña margarita	14,46 ±0,42d	27,85 ±1,34g
Ucayalino	18,21 ±1,36c	40,81 ±3,09d
Ckamitaki	14,59 ±0,64d	36,88 ±1,54e
Ñuña pava	17,55 ±0,36c	31,62 ±2,64f
Calima	36,66 ±3,80a	41,03 ±1,37d
Pusac puncuy	13,96 ±0,91d	16,27 ±1,30h
Renkino	17,43 ±1,02c	47,35 ±3,41c
Rojo arriñonado	37,04 ±1,83a	66,13 ±3,76a
Caraota	21,03 ±0,87b	33,57 ±1,51f

Nota. Los valores son presentados como promedio±desviación estándar de n=3 muestras, las letras iguales en la misma columna indican que no hay diferencia estadística (ANVA y prueba de Tukey, p<0,05).

En la figura 20, se compara el método DPPH extractable y el DPPH-Quencher, los valores del método DPPH extractable es menor que el método directo.

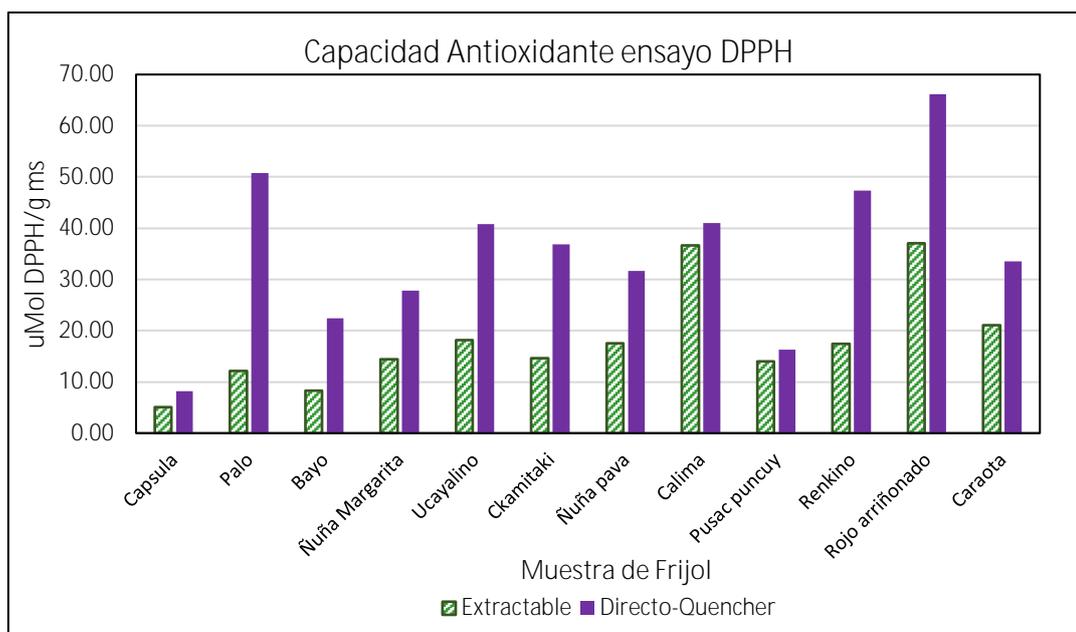
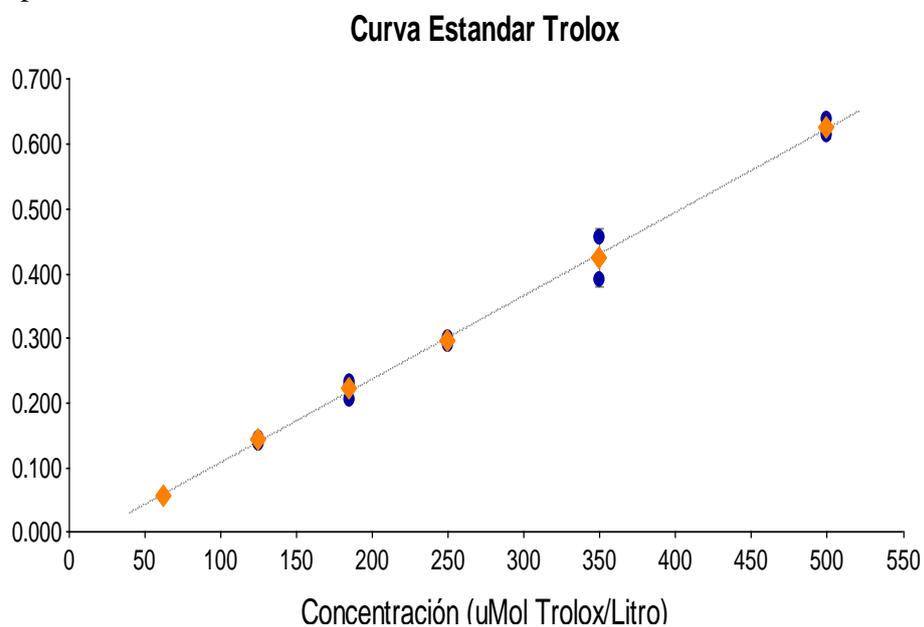


Figura 20. Capacidad antioxidante por el método DPPH extractable y Quencher.

Método ABTS

Los resultados de la capacidad antioxidante por el método de ABTS+, fueron calculados en referencia al equivalente Trolox, en la figura 21 se muestra la curva de estándar empleada.



Curve Name	Curve Formula	A	B	R2
StdCurve	Y=A*X+B	0,00129	-0,0225	1

Figura 21. Curva estándar del patrón Trolox para la capacidad antioxidante método ABTS+.

En la tabla 7, se presenta los valores obtenidos para el método ABTS+. Donde se aprecia que el frijol rojo arriñonado posee el mayor valor con $41,388 \pm 0,14$

uMol Equiv. Trolox/g de semilla de frijol y en el frijol capsula presenta la menor capacidad inhibitoria con $10,327 \pm 0,60$ uMol Equiv. Trolox/g de semillas de frijol.

Tabla 7

Capacidad antioxidante de los granos de frijol por el método ABTS+

Muestra de Frijol	TEAC ABTS
	uMol Equiv. Trolox/g
Capsula	11,39 $\pm 0,67$ h
Palo	13,90 $\pm 0,13$ h
Bayo	15,48 $\pm 1,16$ h
Ñuña margarita	17,82 $\pm 0,45$ g
Ucayalino	22,68 $\pm 0,34$ e
Ckamitaki	19,15 $\pm 1,27$ f
Ñuña pava	25,85 $\pm 0,85$ d
Calima	39,71 $\pm 0,96$ b
Pusac puncuy	18,73 $\pm 2,30$ f
Renkino	22,56 $\pm 0,51$ e
Rojo arriñonado	45,29 $\pm 0,15$ a
Caraota	26,78 $\pm 3,53$ c

Nota. Los valores son presentados como promedio \pm desviación estándar de n=3 muestras, las letras iguales en la misma columna indican que no hay diferencia estadística (ANVA y prueba de Tukey, $p < 0,05$).

4.3. Determinación de Polifenoles

En la tabla 8, se muestran los resultados de la cuantificación de polifenoles totales mediante el ensayo de Folin-Ciocalteu en las variedades de frijol. Expresados en mg Equiv. Ac. Gálico/g de frijol.

Tabla 8

Contenido de polifenoles totales en las muestras de granos de frijol

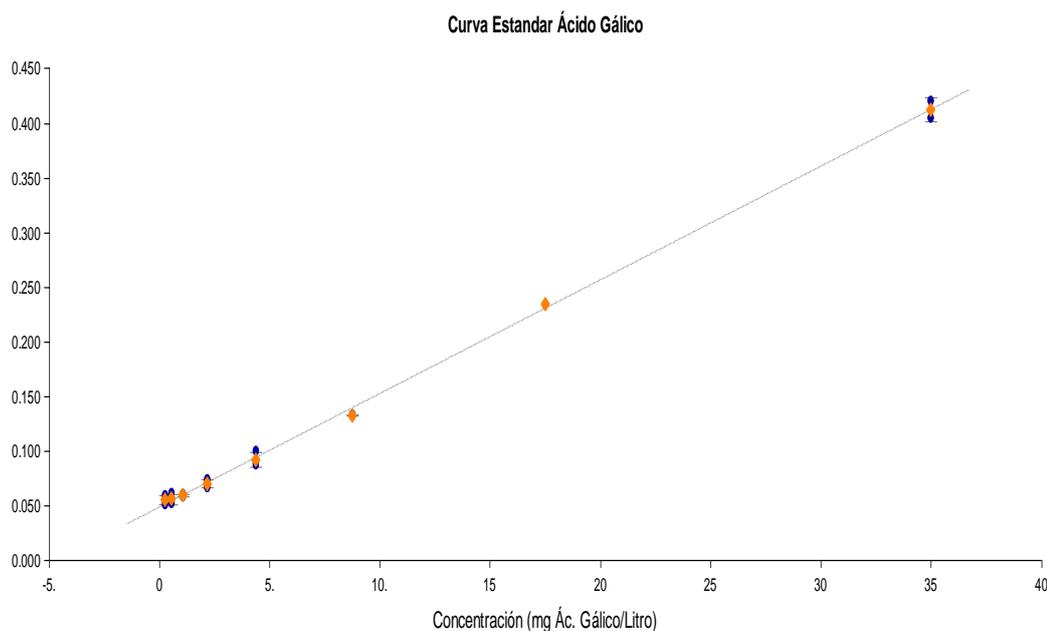
Muestra de Frijol	Polifenoles Totales
	mg Equiv. Ac. Gálico/g
Capsula	0,61 ±0,05f
Palo	0,82 ±0,04f
Bayo	0,83 ±0,06f
Ñuña margarita	1,36 ±0,16d
Ucayalino	1,72 ±0,08c
Ckamitaki	1,15 ±0,10e
Ñuña pava	1,03 ±0,11f
Calima	2,04 ±0,26b
Pusac puncuy	0,99 ±0,07f
Renkino	1,66 ±0,13c
Rojo arriñonado	2,61 ±0,28a
Caraota	1,22 ±0,11e

Nota. Los valores son presentados como promedio±desviación estándar de n=3 muestras, las letras iguales en la misma columna indican que no hay diferencia estadística (ANVA y prueba de Tukey, p<0,05).

Los resultados del contenido de Polifenoles en los granos de las 12 variedades de frijol muestran que la variedad rojo arriñonado tiene mayor contenido de polifenoles con $2,386 \pm 0,25$ mg Equiv. Ácido gálico/g de frijol y la variedad con menor contenido de Polifenoles es la variedad capsula con un valor de $0,556 \pm 0,05$ mg Equiv. Ácido gálico/g.

En la figura 22, se puede apreciar curva estándar, teniendo como patrón al ácido gálico, esta curva se empleó para calcular la cantidad de polifenoles totales, donde se obtiene la relación lineal con un $r^2=0,999$.

$$\text{Absorbancia, 760 nm} = 0,0104 (\text{mg ÁC. Gálico/g}) + 0,0487.$$



Curve Name	Curve Formula	A	B	R2
Curva Estandar	Y=A*X+B	0,0104	0,0487	0,999

Figura 22. Curva de estándar del ácido gálico para la cuantificación de polifenoles totales.

4.4. Relación de la capacidad antioxidante, contenido de polifenoles y color.

En la tabla 9, se muestra las correlaciones de Pearson para todas las combinaciones de los ensayos en capacidad antioxidante, parámetros de color y contenido de polifenoles totales en las 12 muestras de frijol.

Tabla 9

Matriz de correlación de Pearson para las evaluaciones en el frijol

Mediciones	DPPH-Ext	DPPH-Quencher	ABTS	Polifenoles	L*	a*	b*
DPPH-Ext		0,686	0,980	0,904	-0,672	0,372	-0,595
DPPH-Quencher	0,686*		0,650	0,745	-0,620	0,318	-0,322
ABTS	0,980**	0,65*		0,893	-0,642	0,324	-0,638
Polifenoles	0,904**	0,745**	0,893**		-0,656	0,457	-0,563
L*	-0,672*	-0,62*	-0,642*	-0,656*		-0,555	0,645
a*	0,372	0,318	0,324	0,457	-0,555		-0,220
b*	-0,595*	-0,322	-0,638*	-0,563	0,645*	-0,220	

Nota. Valores con * es significativo, ** es altamente significativo a un nivel de significancia de $\alpha=0,05$

Para encontrar la relación de las evaluaciones realizadas para la capacidad antioxidante, parámetros de color y contenido de polifenoles en las 12 variedades de frijol, para ello se realizó un Análisis de Componentes Principales. En la figura 23, se muestra el análisis de componentes principales, el cual se realizó con el fin de observar la variabilidad de las combinaciones lineales de las muestras y los análisis.

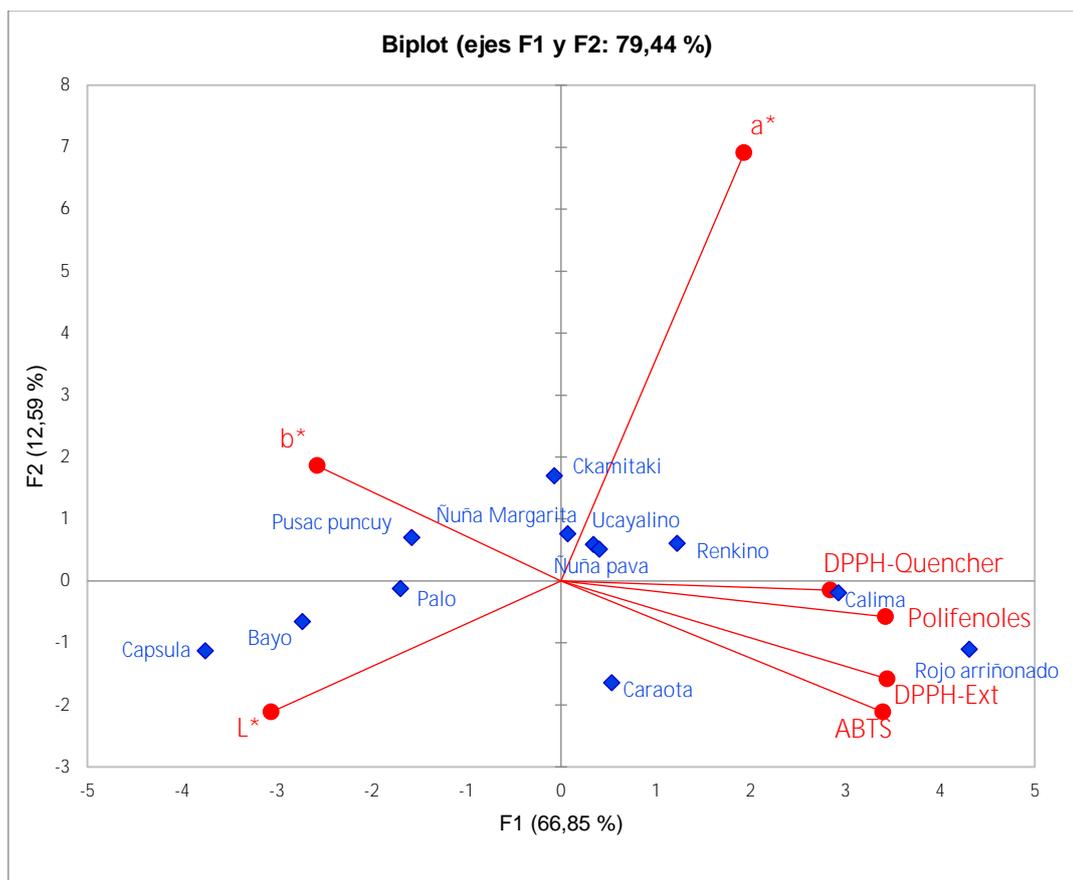


Figura 23. Diagrama biplot de las evaluaciones en el frijol según el método de componentes principales.

El análisis de componentes principales (ACP) realizado con las evaluaciones muestra que el primer componente F1 representa el 66,85% y, en el segundo componente F2 que expone el 12,59%.

El análisis de conglomerados efectuados en los datos de capacidad antioxidante y color de las 12 variedades de frijol, muestra 3 grupos diferenciados por la similitud del frijol y son mostrados en la figura 24, se observa que el primer grupo tiene 3 variedades de frijol, el segundo grupo 4 variedades de frijol y el tercer grupo tiene 5 variedades de frijol.

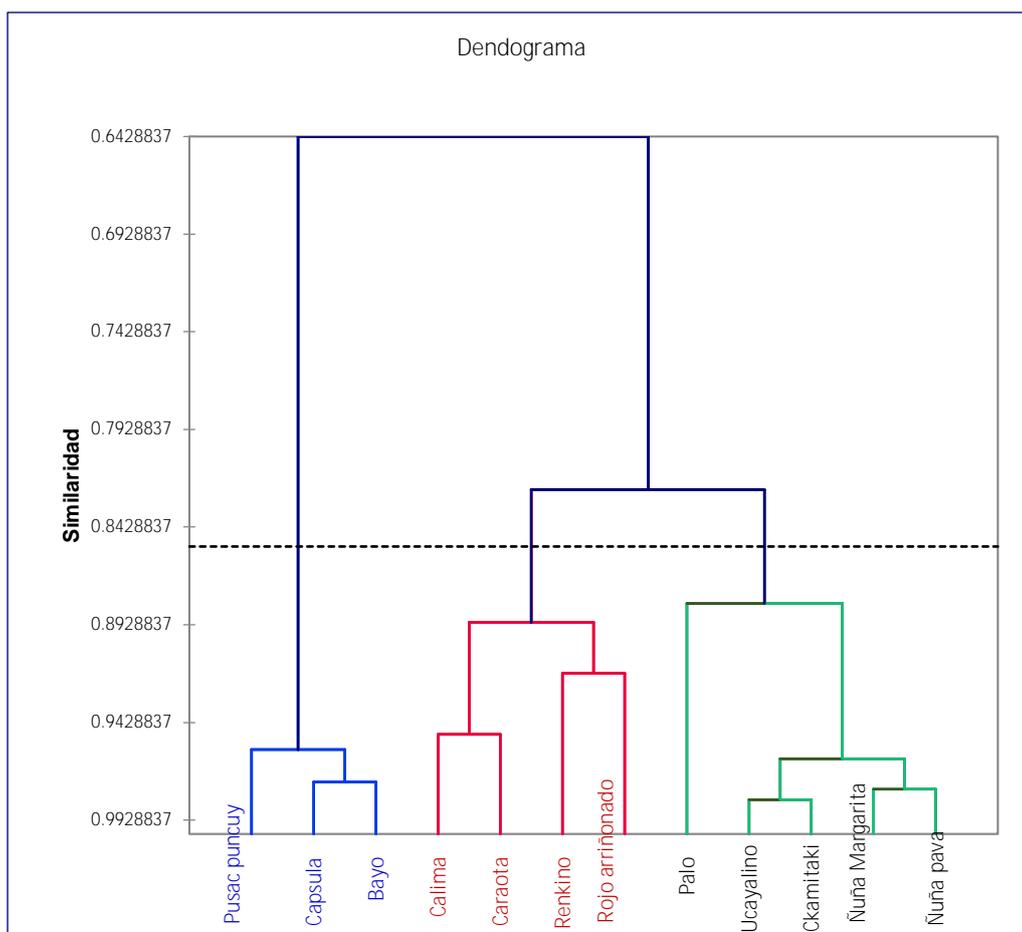


Figura 24. Dendrograma de similaridad de los frijoles en base a la capacidad antioxidante y color.

En la figura 25, se presenta la Correlación entre los métodos de capacidad antioxidante, método DPPH-Extractable y el método ABTS+.

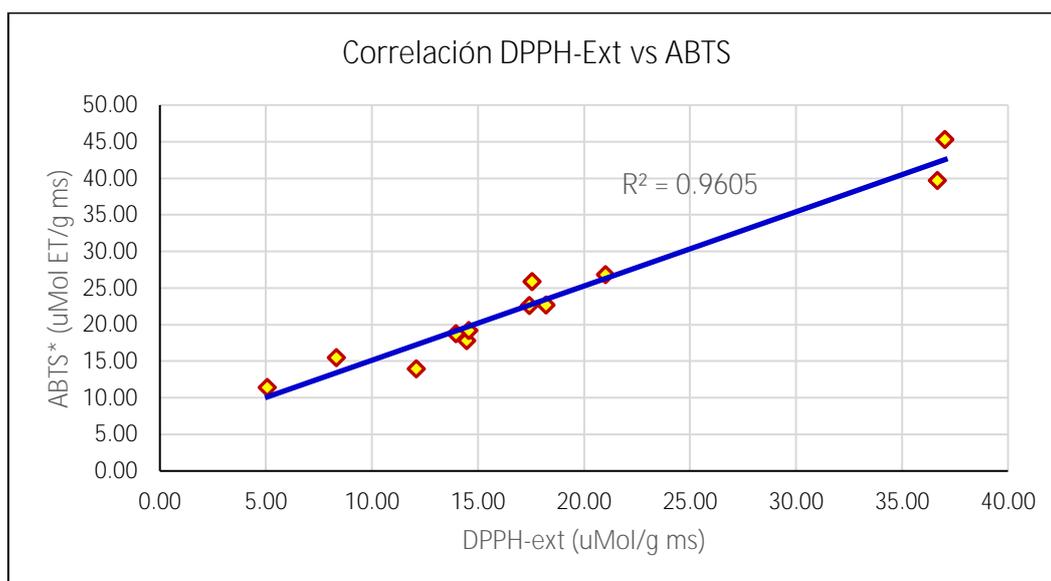


Figura 25. Correlación mayor encontrada en la capacidad antioxidante del frijol.

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

5.1. Discusión

- **De las características generales de los frijoles.**

La humedad de las muestras expuestas en la tabla 4 muestran un rango que va de 6,15% a 9,78%, valores más bajos que lo reportado por Shimelis and Rakshit (2005) en muestras de frijoles cultivadas en Etiopia con variación de 9,44 a 11,00 g agua/g materia seca. En cuanto al color de las muestras de frijoles mostradas en la misma tabla 4, se obtuvo valores de luminancia (*L) que van de 31,81 a 70,38, correspondiente una mayor blancura al frijol Capsula y Bayo (L= 70,38 y 63,00 correspondientemente), y con valores más bajos (31,81, 32,42 y 34,18) en el Renkino seguidos del Rojo arriñonado y Caraota los que son consistentes con el color oscuro de estos frijoles, estos valores son similares a lo reportado por Shimelis and Rakshit (2005), con valores que fueron de 28,82 a 73,94 en ocho frijoles procedentes de Etiopia, sin embargo Chávez-Mendoza, Hernández-Figueroa, and Sánchez (2018) reporta un rango más amplio de 23,47 a 77.00 evaluados en 12 frijoles más comunes de México. El parámetro colorimétrico de a* (Rojo-purpura a Verde) vario de 0,80 a 18,08 estos valores son positivos concordante por la presencia de muestras rojizas, la muestra Ckamitaki presento un valor más alto de 18.08 y los más bajos fueron para el frijol Caraota y Capsula (0,80 y 1,06 respectivamente), estos resultados coinciden en parte con lo reportado por Shimelis and Rakshit (2005), donde las variedades con tonalidades más oscuras y más claras son las que tiene menor valor de a* correspondiendo a la tonalidad roja. En cuanto a los valores de b* correspondiente al parámetro colorimétrico de Amarillo a Azul dio resultado un solo valor negativo (-1,38 tonalidad azul) en la muestra Caraota, la muestra con mayor valor para la tendencia amarilla fue en el frijol palo siendo de 15,78 seguido de 15,17 para la Pusac puncuy.

- **De la Capacidad antioxidante.**

En cuanto a la capacidad antioxidante para las 12 muestras de frijoles mediante el ensayo DPPH según los datos mostrados en la tabla 6, dan resultados para la modalidad extractable desde 5,08 a 37,04 uMol DPPH/g ms,

las muestras con mayor valor fueron del frijol Rojo arriñonado y Calima (37,04 y 36,66 uMol DPPH/g ms respectivamente), las muestras con menor capacidad antioxidante extractable fue para la variedad Capsula y Bayo (5,08 y 8,34 uMol DPPH/g ms respectivamente), al comparar estos resultados con lo reportado por Teixeira-Guedes, Oppolzer, Barros, and Pereira-Wilson (2019) que en 5 muestras de frijol obtuvo valores que van de 2,66 a 5,39 uMol ET/g ms, y por Pérez-Perez et al. (2020), que encontró valores que oscilan entre 0,60 a 3,01 μ Mol ET/g en 6 frijoles crudos, pues estos valores fueron superados por lo encontrado en esta investigación donde se obtuvo una rango de 2,54 a 18,52 uMol ET/g ms pero evaluando 12 muestras y los frijoles que tiene mayor capacidad antioxidante no fueron evaluadas en estas investigaciones por lo que no es posible una comparación justa, sin embargo si coincide con los valores mostrados por Aquino-Bolaños et al. (2016) donde reportaron un rango de 7,10 a 32,40 uMol ET/g ms. En cuanto a la evaluación de la capacidad antioxidante total por el método directo DPPH-Quencher esta es la primera vez que se realiza la cuantificación en estas muestras de frijoles en donde se obtuvo un rango de 8,20 a 66,13 uMol DPPH/g ms, los valores más alto fueron en los frijoles Palo y Rojo arriñonado (50,81 y 66,13 uMol DPPH/g ms), en esto se pudo observar que la capacidad antioxidante extractable del frijol palo fue de 12.10 uMol DPPH/g ms lo que representaría un 23,81% de la capacidad antioxidante total evaluada por el método directo DPPH-Quencher, en si este método supero al ensayo tradicional que es por extracción en 10,63% a 76,19% lo que sería la fracción no extraíble, además las muestras de frijol Calima y Pusac Puncuy fueron las que tuvieron mayor eficiencia en la extracción, estos valores de capacidad antioxidante por este método directo sería igual y algo superior que los granos de Amaranto (7,99) pero menor que al del trigo sarraceno (194,20 uMol DPPH/g ms) que fue reportado por Condezo-Hoyos, Abderrahim, Arriba, and Carmen Gonzalez (2015), Serpen, Gökmen, and Fogliano (2012) reportaron que muestras de frijol dieron un valor de 28,6 uMol ET/g evaluado por este mismo ensayo lo que estaría de acorde con los valores encontrados en esta investigación que fue de 4,10 a 33,06 uMol ET/g ms de frijol.

En cuanto a la capacidad antioxidante evaluado por el método de ABTS+* que es mostrada en la tabla 7 se encontró valores de 11,39 a 45,29 $\mu\text{Mol ET/g ms}$, siendo el frijol Rojo arriñonado con mayor capacidad antioxidante y el frijol Capsula el de menor valor, estos valores superaron a la capacidad antioxidante (0,47-1,67 $\mu\text{Mol ET/g}$) reportada en 5 frijoles por García-Díaz et al. (2018), a lo reportado por Pérez-Perez et al. (2020) valores que van de 0,68 a 2,18 $\mu\text{Mol ET/g}$ en frijol crudo de 6 frijoles, a lo encontrado por Wang et al. (2016) que obtuvo un rango de 3,77 a 16,59 $\mu\text{Mol ET/g}$ en frijol crudo de 14 frijoles.

- **Del contenido en Polifenoles totales de los frijoles.**

En la cuantificación de polifenoles totales para los 12 frijoles evaluados y mostradas en la tabla 8 se obtuvo valores de 0,61 a 2,61 mg EAG/g ms de frijol, siendo el frijol Rojo arriñonado con mayor tenor en compuestos polifenolicos (2,61) seguido del frijol Calima (2,04), Ucayalino (1,72), Renkino (1,66), ñuña Margarita (1,36), Caraota (1,22), Ckamitaki (1,15), ñuña pava (1,03), Pusac puncuy (0,99), Bayo (1,83), Palo (1,82) y Capsula (0,61) el cual tiene un menor contenido de polifenoles totales, estos datos coinciden en algo con lo hallado por Teixeira-Guedes et al. (2019) en 5 muestras de frijol con valores que van de 0,61 a 1,36 mg EAG/g ms , luego con los de Chávez-Mendoza et al. (2018), que obtuvieron un rango más alto de 0,69 a 3,32 mg EAG/g ms evaluados en 12 frijoles más comunes de México, y también con lo de Fan and Beta (2017) que al evaluar en 18 frijoles hallaron un rango de contenido de polifenoles que van de 1,03 a 2,44 mg EAG/g ms , sin embargo también hay reportes cuyo valor del contenido de compuestos polifenoles en frijoles son más altos como lo mostrado por Pérez-Perez et al. (2020) que encontró un rango que oscilan entre 1,91 a 5,66 mg EAG/g en frijol crudo, Aquino-Bolaños et al. (2016) que reportaron haber encontrado frijoles con un rango de polifenoles totales que van de 1,30 a 5,40 mg EAG/g , y lo reportado por Salas et al. (2015) cuyos valores fueron de 0,40 a 9,60 mg EAG/g ms .

- **De la Relación entre la capacidad antioxidante, contenido de polifenoles y color**

De acuerdo a los datos mostrados en la tabla 9 con la matriz de correlación según el coeficiente de Pearson para todos los ensayos y color a un nivel de confianza de 95%, se puede establecer que los compuestos polifenólicos de los frijoles influyen directamente con su capacidad antioxidante, es decir los polifenoles totales presentan una alta correlación ($r=0,904$) positiva y altamente significativa con el método DPPH-extractable, también con el método ABTS+ ($r= 0,893$) y con el método directo DPPH-Quencher ($r=0,745$), es claro que en todas estas evaluaciones el frijol Rojo arriñonado es la muestra con mayor contenido de compuestos bioactivos antioxidantes y el frijol capsula fue la variedad con menor compuestos antioxidantes, esto nos induciría a indicar que el color también tiene que ver con la capacidad antioxidante, pues se presentó una correlación negativa ($r=-0,672$ a $-0,62$) y significativa con el valor de la luminiscencia (L^*) esto demuestra que cuanto más bajo es el parámetro L^* más alta es la capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles, ya que los frijoles con mayor valor bioactivo son las muestras más oscuras o coloridas, esta misma tendencia se muestra también en el parámetro b^* correspondiente a que las frijoles van de color Amarillo-azul las correlaciones negativas indican que las muestra con tonalidad azul tienen mayor valor bioactivo como es el caso de las variedades Rojo arriñonado, Calima, Caraota y Renkino tal como se muestra en la figura 23 mediante el análisis de Componentes principales, en esta misma grafica se observa que los frijoles Capsula, Bayo, pusac puncuy y palo tiene fuerte relación con los valores altos de L^* y b^* , en un grupo intermedio se poseionan los frijoles Ucayalino, nuña pava, Ckamitaki y nuña margarita esta clasificación también se puede observar en la figura 24 donde el análisis de conglomerado muestra dendograma de la similaridad de los frijoles en base a su color, compuestos polifenólicos y actividad antioxidante, así mismo la tabla 9 reporta un alta correlación significativa ($r=0,98$) entre los métodos de actividad antioxidante DPPH extractable y ABTS* (ver figura 25), esto indica que las evaluaciones realizadas por estos ensayos no discrepan en que muestras tiene mayor y menor compuestos antioxidantes en los frijoles evaluados.

CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1. conclusiones

Luego de obtener los resultados en la presente investigación se logró presentar las siguientes conclusiones

- Los frijoles de las 12 variedades evaluadas presentan tener capacidad antioxidante o poder antirradical mediante los métodos DPPH extractable (5,08 a 37,04 uMol DPPH/g ms), método ABTS* (11,39 a 45,29 uMol ET/g ms) y con el método directo DPPH-Quencher (8,20 a 66,13 uMol DPPH/g ms)
- Los frijoles evaluados presentan contenido de compuestos fenólicos totales mediante el ensayo del reactivo Folin- Ciocalteu en cuyos extractos se obtuvo valores que oscilan entre 0,61 a 2,61 mg EAG/g ms, los mismo que influyen significativamente en la capacidad antioxidante de los frijoles.
- En todos los ensayos se coincidió que los frijoles Rojo arriñonado, Calima, Caraota y Renkino tienen mayor valor en capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales, un grupo de frijoles con valores intermedios lo conforman las variedades Ucayalino, nuña pava, Ckamitaki y nuña margarita, y los frijoles con un menor contenido fueron en las variedades Capsula, Bayo, pusac puncuy y palo, se estableció que las muestras con menor valor de los parámetros colorimétricos de L* y b* tienen mayor en capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales.

6.2. Recomendaciones

- Se recomienda el consumo de frijoles porque constituye un alimento que contienen compuestos fenólicos y presentan capacidad antioxidante, mejor si provienen de variedades con coloraciones oscuras.
- Evaluar el contenido de flavonoides, antocianinas y otros métodos de capacidad antioxidante en los frijoles cuyos extractos deben ser realizados empleando tecnologías más limpias como microondas, ultrasonidos, fluidos supercríticos y otros.
- Evaluar la influencia de la cocción en la capacidad antioxidante, contenido de polifenoles totales, flavonoides, antocianinas en varias variedades de frijoles teniendo en consideración los que más se emplean en la gastronomía tradicional.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Adauto, A. (2012). *Evaluacion de actividad antioxidante y vitamina c en pulpa concentrada en dos estadios (fisiologicamente maduro y maduro) del fruto zarzamora (Rubus sp.)*. (Tesis de pre grado), Universidad Nacional del Centro del Perú, Huancayo-Perú.
- Aliaga, G. (2019). *Optimización del proceso y caracteización físico química de aislado proteico de frijol de palo (Cajanus cajan l.)*. (Tesis de pre grado), Universidad Nacional de San Martín-Tarapoto, Tarapoto, Perú.
- Aquino-Bolaños, E., García-Díaz, Y., Chavez-Servia, J. L., Carrillo-Rodríguez, J. C., Vera, A., & Heredia-García, E. (2016). Anthocyanin, polyphenol, and flavonoid contents and antioxidant activity in Mexican common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 28, 581-588.
- Araneda, M. (2020). Legumbres. Composición y propiedades. Retrieved from <https://www.edualimentaria.com/legumbres-composicion-y-propiedades>
- Belš ak-Cvitanovi , A., Durgo, K., Hu ek, A., Ba un-Družina, V., & Komes, D. (2018). Overview of polyphenols and their properties. In C. M. Galanakis (Ed.), *Polyphenols: Properties, Recovery, and Applications* (pp. 3-44): Woodhead Publishing.
- Biddle, A. J. (2017). *Peas and Beans*. United Kingdom: CABI.
- Chávez-Mendoza, C., Hernández-Figueroa, K. I., & Sánchez, E. (2018). Antioxidant Capacity and Phytonutrient Content in the Seed Coat and Cotyledon of Common Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) from Various Regions in Mexico. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 8(1), 5. doi:10.3390/antiox8010005
- Condezo-Hoyos, L., Abderrahim, F., Arriba, S. M., & Carmen Gonzalez, M. (2015). A novel, micro, rapid and direct assay to assess total antioxidant capacity of solid foods. *Talanta*, 138, 108-116. doi:10.1016/j.talanta.2015.01.043
- Cruz, J., Camarena, F., Baudoin, J. P., Huaranga, A., & Blas, R. (2009). Evaluación agromorfológica y caracterización molecular de la ñuña (*Phaseolus vulgaris* L.). *Idesia (Arica)*, 27(1), 29-40.

- Dasgupta, A., & Klein, K. (2014). Chapter 2 - Methods for Measuring Oxidative Stress in the Laboratory. In A. Dasgupta & K. Klein (Eds.), *Antioxidants in Food, Vitamins and Supplements* (pp. 19-40). San Diego: Elsevier.
- Debouck, D. G., & Hidalgo, R. (1985). Morfología de la planta de frijol comun. In M. López, F. Fernández, & A. Schoonhoven (Eds.), *Frijol: Investigación y producción*. (pp. 7-41). Cali, Colombia: Programa de las Naciones Unidas (PNUD); Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT).
- Del Pino-García, R., García-Lomillo, J., Rivero-Perez, M., González-SanJosé, M. L., & Muñiz, P. (2015). Adaptation and Validation of QUick, Easy, New, CHEap, and Reproducible (QUENCHER) Antioxidant Capacity Assays in Model Products obtained from Residual Wine Pomace. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63. doi:10.1021/acs.jafc.5b01644
- Delgado-Andrade, C., Conde-Aguilera, J. A., Haro, A., Pastoriza de la Cueva, S., & Rufián-Henares, J. Á. (2010). A combined procedure to evaluate the global antioxidant response of bread. *Journal of Cereal Science*, 52(2), 239-246. doi:https://doi.org/10.1016/j.jcs.2010.05.013
- Dontha, S. (2016). A review on antioxidant methods. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 9(2), 14-32. doi:10.22159/ajpcr.2016.v9s2.13092
- Esparza, R. (2017). *Capacidad Antioxidante y Polifenoles Totales del Grano de Cacao (Theobroma cacao L.) de los Distritos de Naranjillo y Rioja*. (Tesis de pre grado), Universidad César Vallejo, Trujillo, Perú.
- Fan, G., & Beta, T. (2017). Discrimination of geographical origin of Napirira bean (*Phaseolus vulgaris* L.) based on phenolic profiles and antioxidant activity. *Journal of Food Composition and Analysis*, 62, 217-222. doi:https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.07.001
- FAO. (2018). *Legumbres. Pequeñas semillas, grandes soluciones*. Ciudad de Panamá.
- García-Díaz, Y. D., Aquino-Bolaños, E. N., Chávez-Servia, J. L., Vera-Guzmán, A. M., & Carrillo-Rodríguez, J. C. (2018). Bioactive compounds and antioxidant activity in the common bean are influenced by cropping season and genotype. *Chilean journal of agricultural research*, 78, 255-265.

- García, Y. (2016). *Compuestos fenólicos y actividad antioxidante en testa y grano de 54 poblaciones nativas de frijol común (Phaseolus vulgaris L.)*. (Tesis de pre grado), Universidad Veracruzana, Veracruz, México.
- Ghani, U. (2020). Chapter three - Polyphenols. In U. Ghani (Ed.), *Alpha-Glucosidase Inhibitors* (pp. 61-100): Elsevier.
- Granato, D., Shahidi, F., Wrolstad, R., Kilmartin, P., Melton, L. D., Hidalgo, F. J., . . . Finglas, P. (2018). Antioxidant activity, total phenolics and flavonoids contents: Should we ban in vitro screening methods? *Food Chemistry*, 264, 471-475. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.012>
- Hermann, M., Amaya, K., Latournerie, L., & Castiñeiras, L. (2009). *¿Cómo conservan los agricultores sus semillas en el trópico húmedo de Cuba, México y Perú? Experiencias de un proyecto de investigación en sistemas informales de semillas de chile, frijoles y maíz*. Roma, Italia: Bioversity International.
- Iniestra-González, J., Ibarra-Pérez, F., Gallegos-Infante, J., Rocha-Guzmán, N., & González Laredo, R. (2005). Factores antinutricios y actividad antioxidante en variedades mejoradas de frijol común (*Phaseolus vulgaris*). *Agrociencia*, 39(6), 603 - 610.
- Jurado, B., Aparcana, I. M., Villarreal, L. S., Ramos, E., Calixto, M. R., Hurtado, P. E., & Acosta, K. M. d. C. (2016). Evaluación del contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de los extractos etanólicos de los frutos de aguaymanto (*Physalis peruviana L.*) de diferentes lugares del Perú. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 82, 272-279.
- Kesavan, P., Banerjee, A., Banerjee, A., Murugesan, R., Marotta, F., & Pathak, S. (2018). An Overview of Dietary Polyphenols and Their Therapeutic Effects. In R. R. Watson, V. R. Preedy, & S. Zibadi (Eds.), *Polyphenols: Mechanisms of Action in Human Health and Disease (Second Edition)* (pp. 221-235): Academic Press.
- Laus, M. N., Di Benedetto, N. A., Caporizzi, R., Tozzi, D., Soccio, M., Giuzio, L., . . . Pastore, D. (2015). Evaluation of Phenolic Antioxidant Capacity in Grains of Modern and Old Durum Wheat Genotypes by the Novel QUENCHERABTS Approach. *Plant Foods Hum Nutr*, 70(2), 207-214. doi:10.1007/s11130-015-0483-8

- León, J. (2020). Frijol, haba y arveja representan el 77% de la producción de legumbres en nuestro país. Retrieved from <https://agraria.pe/noticias/frijol-haba-y-arveja-representan-el-77-de-la-produccion-de-l-20836>
- Lim, T. K. (2012). *Cajanus cajan Edible Medicinal And Non-Medicinal Plants* (Vol. 2, Fruits): Springer, Dordrecht.
- Los, F. G. B., Zielinski, A. A. F., Wojcicchowski, J. P., Nogueira, A., & Demiate, I. M. (2018). Beans (*Phaseolus vulgaris* L.): whole seeds with complex chemical composition. *Current Opinion in Food Science*, 19, 63-71. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.01.010>
- Martínez, J. (2013). *Efecto del procesamiento en el contenido de compuestos fenólicos y las propiedades antioxidantes de diferentes variedades de frijol (Phaseolus vulgaris L.) Mexicano*. (Tesis que para obtener el título de Químico en Alimentos), Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, México.
- Meireles, D. (2017). *Efeito do processamento doméstico de feijão preto (Phaseolus vulgaris L.) sobre o perfil de compostos fenólicos solúveis e insolúveis e sua capacidade antioxidante*. (Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal Fluminense como requisito à obtenção do título de Mestre.), Universidade Federal Fluminense, Niterói, Brasil.
- Moharram, H., & Youssef, M. (2014). Methods for determining the antioxidant activity: a review. *Alex. J. Fd. Sci. & Technol*, 11(1), 31-42.
- Mujica, M. V., Granito, M., & Soto, N. (2012). Variación de los compuestos fenólicos de *Phaseolus vulgaris* L. durante el almacenamiento y su relación con el endurecimiento. *Bioagro*, 24, 163-174.
- Nazzaro, F., Fratianni, F., De Feo, V., Battistelli, A., Da Cruz, A. G., & Coppola, R. (2020). Polyphenols, the new frontiers of prebiotics. *Adv Food Nutr Res*, 94, 35-89. doi:10.1016/bs.afnr.2020.06.002
- Oh, M., Kim, E. K., Jeon, B. T., Tang, Y., Kim, M. S., Seong, H. J., & Moon, S. H. (2016). Chemical compositions, free amino acid contents and antioxidant activities of Hanwoo (*Bos taurus coreanae*) beef by cut. *Meat Sci*, 119, 16-21. doi:10.1016/j.meatsci.2016.04.016
- Ombra, M. N., d'Acierno, A., Nazzaro, F., Riccardi, R., Spigno, P., Zaccardelli, M., . . . Fratianni, F. (2016). Phenolic Composition and Antioxidant and

- Antiproliferative Activities of the Extracts of Twelve Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Endemic Ecotypes of Southern Italy before and after Cooking. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 1398298. doi:10.1155/2016/1398298
- Pérez-Perez, L. M., Toro Sánchez, C. L. D., Sánchez Chavez, E., González Vega, R. I., Reyes Díaz, A., Borboa Flores, J., . . . Flores-Cordova, M. A. (2020). Bioaccesibilidad de compuestos antioxidantes de diferentes variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en México, mediante un sistema gastrointestinal in vitro. *Biotecnica*, 22, 117-125.
- Pesantes, M. P. V., J. (2013). Caracterización y evaluación de la variabilidad de doce colectas de *Phaseolus vulgaris* tipo reventon procedente de la provincia de Santiago de Chuco (Perú). *REBIOL*, 33(2), 23 - 33.
- Pitura, K., & Arntfield, S. D. (2018). Characteristics of flavonol glycosides in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seed coats. *Food Chemistry*, 272, 26-32. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.220>
- Quintanilla, J. (2011). *Evaluación de la actividad antioxidante y cuantificación de quercetina en dos especies de frijol: Frijol palo (Cajanus cajan L.) y frijol chaucha (Phaseolus vulgaris L.)*. (Tesis de pre grado), Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo Maria, Perú.
- Quispe, J. (2008). *Caracterización y evaluación agronómica de germoplasma de frijol (Phaseolus vulgaris L.) en la provincia Caranavi (Departamento de La Paz)*. (Tesis de pre grado), Universidad Mayor de San Andrés, La Paz, Bolivia.
- Ranilla, L. G., Genovese, M. I., & Lajolo, F. M. (2007). Polyphenols and Antioxidant Capacity of Seed Coat and Cotyledon from Brazilian and Peruvian Bean Cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(1), 90-98. doi:10.1021/jf062785j
- Reyes, M., Gómez-Sánchez, I., Espinoza, C., Bravo, F., & Ganoza, L. (2009). *Tablas Peruanas de Composición de Alimentos* (8 ed.). Lima: Instituto Nacional de Salud
- Ruiz, S., Venegas, E., Díaz, H., & Rodríguez, I. (2012). Capacidad antioxidante in vitro de las isoflavonas totales obtenidas de semillas de *Glycine max* L. (Soya) provenientes de la provincia de Jaén-Cajamarca. *UCV - Scientia*, 4(1), 23-32.

- Salas, R., Ordoñez, E., & Reátegui, D. (2015). Polifenoles totales y capacidad antioxidante (DPPH Y ABTS) en cuatro variedades de frejol (*Phaseolus vulgaris* L.) crudo seco, remojado y cocido. *Investigación y Amazonía*, 5(2), 55-62.
- Samayoa, L. F. (2010). *Explotación de la nueva variación genética y mejora genética del complejo de Phaseolus vulgaris L.* (Trabajo realizado en el Grupo de Leguminosas del Departamento de Recursos Fitogenéticos), Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Pontevedra, España.
- San Román, T. (2019). *Rendimiento de frijol (Phaseolus vulgaris L.) con cuatro fuentes de abonos orgánicos en el distrito nuevo imperial, Cañete.* (Tesis de pre grado), Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.
- Santamaría, J., Rodas, E., Casimiro, M., Paredes, J., Mendieta, J., & Sihuas, A. (2020). *Boletín Estadístico Mensual “El Agro en Cifras” - Diciembre 2019.* Retrieved from Sistema Integrado de Estadística Agraria: <http://siea.minagri.gob.pe/siea/?q=boletin-estadistico-mensual-el-agro-en-cifras-2019>
- Serpen, A., Gökmen, V., & Fogliano, V. (2012). Solvent effects on total antioxidant capacity of foods measured by direct QUENCHER procedure. *Journal of Food Composition and Analysis*, 26(1), 52-57. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2012.02.005>
- Shimelis, E. A., & Rakshit, S. K. (2005). Proximate composition and physico-chemical properties of improved dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties grown in Ethiopia. *LWT - Food Science and Technology*, 38(4), 331-338. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.07.002>
- Siddiq, M., & Uebersax, M. A. (2012). Dry Beans and Pulses Production and Consumption—An Overview *Dry Beans and Pulses: Production, Processing and Nutrition* (pp. 408). Reino Unido: Wiley.
- Teixeira-Guedes, C. I., Opolzer, D., Barros, A. I., & Pereira-Wilson, C. (2019). Impact of cooking method on phenolic composition and antioxidant potential of four varieties of *Phaseolus vulgaris* L. and *Glycine max* L. *LWT*, 103, 238-246. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.01.010>
- Valdés, S. T., Coelho, C. M. M., Michelluti, D. J., & Tramonte, V. L. C. G. (2011). Association of genotype and preparation methods on the antioxidant activity, and antinutrients in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *LWT - Food*

- Science and Technology*, 44(10), 2104-2111.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.06.014>
- Valladolid, A. (2001). *El cultivo de frijol (Phaseolus vulgaris L.) en la costa del Perú*. Lima, Perú: Instituto Nacional de Investigacion Agraria.
- Vicente, L. (2017). *Evaluación de la capacidad antioxidante y su relación con la composición fenólica en lentejas*. (Tesis de pre grado), Universidad de Salamanca, Zamora, España.
- Voysest, O. (1983). *Varietades de frijol en América Latina y su origen*. Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical.
- Voysest, O. (2000). *Mejoramiento genético del frijol (Phaseolus vulgaris L.): Legado de variedades de América Latina 1930-1999*. Colombia: CIAT.
- Wang, Y.-K., Zhang, X., Chen, G.-L., Yu, J., Yang, L.-Q., & Gao, Y.-Q. (2016). Antioxidant property and their free, soluble conjugate and insoluble-bound phenolic contents in selected beans. *Journal of Functional Foods*, 24, 359-372. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.04.026>
- Weber, F., & Passon, M. (2019). Characterization and Quantification of Polyphenols in Fruits. In R. R. Watson (Ed.), *Polyphenols in Plants (Second Edition)* (pp. 111-121): Academic Press.
- Weidner, S., Król, A., Karama , M., & Amarowicz, R. (2018). Phenolic compounds and the antioxidant properties in seeds of green- and yellow-podded bean (*Phaseolus vulgaris L.*) varieties. *CyTA - Journal of Food*, 16(1), 373-380. doi:10.1080/19476337.2017.1407826
- Yánac, L. A. (2018). *Análisis del crecimiento y rendimiento de tres variedades de frijol (Phaseolus vulgaris L.) con diferentes dosis nitrogenadas, en la Molina*. (Tesis de pre grado), Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.
- Yang, Q.-Q., Gan, R.-Y., Ge, Y.-Y., Zhang, D., & Corke, H. (2018). Polyphenols in Common Beans (*Phaseolus vulgaris L.*): Chemistry, Analysis, and Factors Affecting Composition. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(6), 1518-1539. doi:10.1111/1541-4337.12391

ANEXOS

ANEXO 1

Método QUENCHER



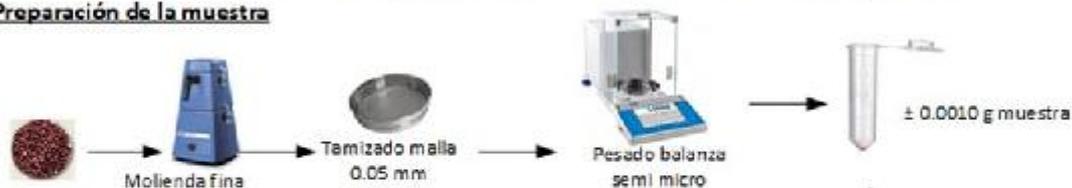
UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ FAUSTINO SANCHEZ CARRIÓN
-HUACHO-

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN MODALIDAD FOCAMI

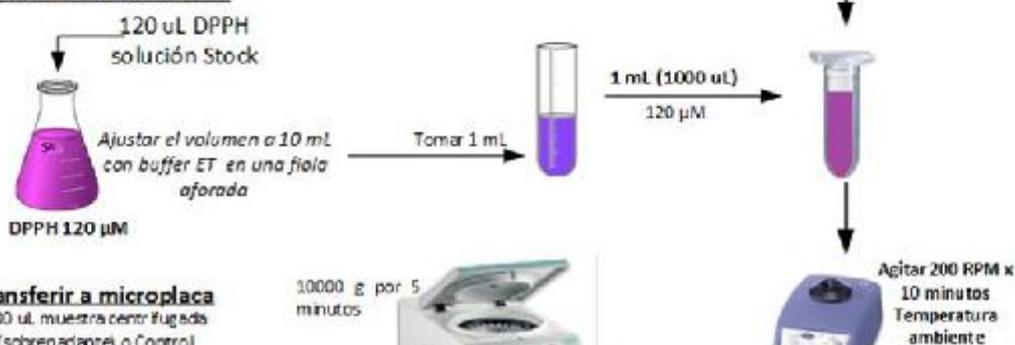
FORMULACIÓN DE BEBIDAS FUNCIONALES CON CAPACIDAD
ANTIOXIDANTE A BASE DE FRUTAS Y VERDURAS

Protocolo Capacidad Antioxidante DPPH-QUENCHER

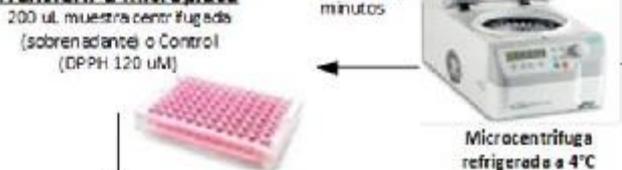
Preparación de la muestra



Adición directa del DPPH



Transferir a microplaca



Cálculos:

$$\frac{\mu\text{Mol}}{\text{g}} = \frac{\text{FI} \times \text{Concentración DPPH} \times \text{Volumen DPPH}}{\text{Peso Muestra}}$$

FI= Fracción de inhibición

$$\text{FI} = \frac{\text{Acontrol} - \text{Amuestra}}{\text{Acontrol}}$$

Preparación de reactivos

Buffer Tris-HCl (10 mM pH = 7.5):

W g Tris base = 0.0303 g --- disolver en 20 mL de agua --- ajustar el pH a 7.5 con HCl ---
ajustar el volumen a 25 mL en una fiola



DPPH stock 10 mM: 0.0039 g --- disolver en etanol ---
ajustar el volumen a 1 mL en una fiola

Referencia

Condezo-Hoyos L. A., Abderrahim F., Arriba S. M., González M.C. (2015). A novel, micro, rapid and direct assay to assess total antioxidant capacity of solid foods. *Talanta* 138 (2015)108–116. Elsevier B.V. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2015.01.043>

ANEXO 2

Método de extracción

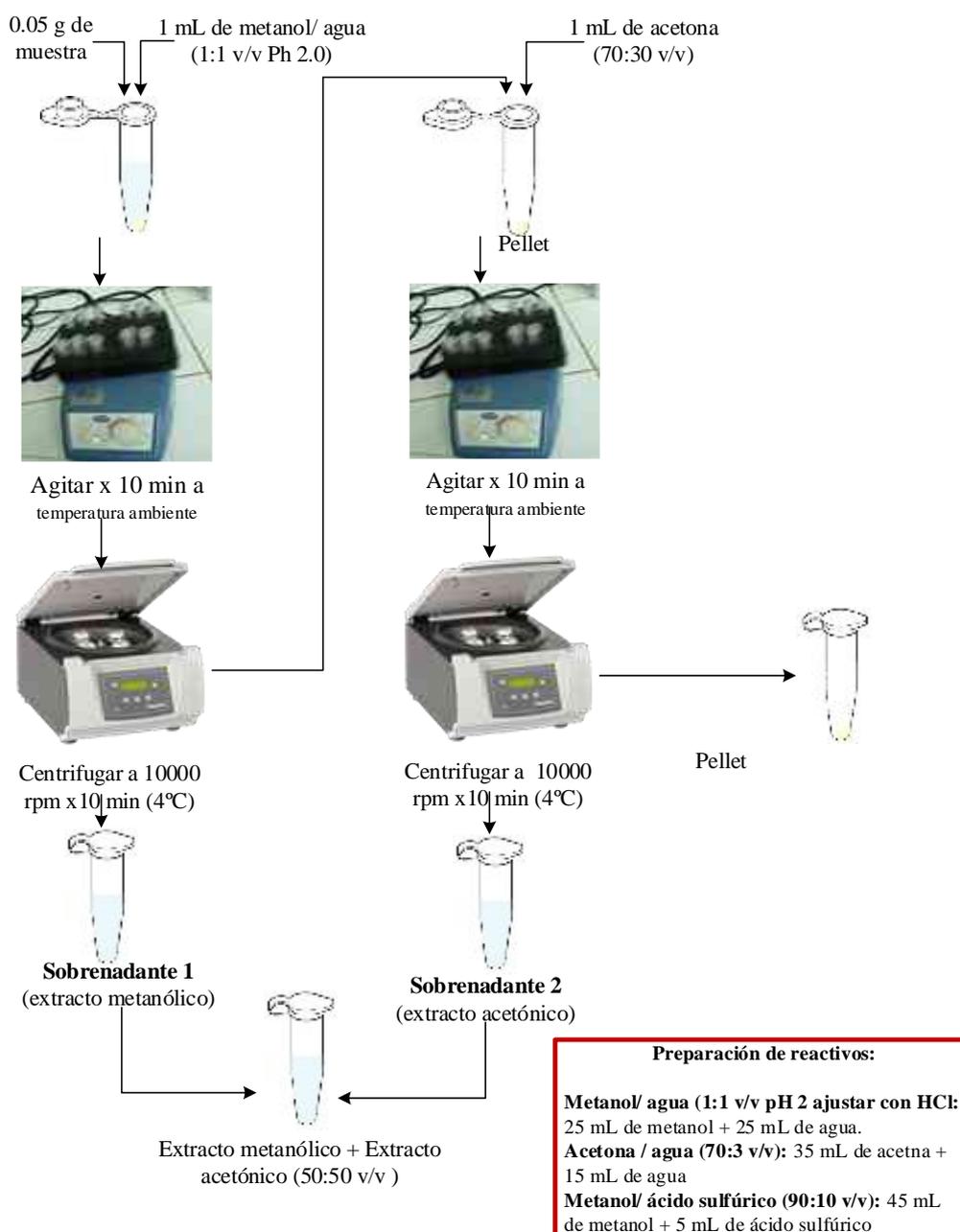


UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ FAUSTINO SÁNCHEZ CARRIÓN -
HUACHO

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN MODALIDAD FOCAM

FORMULACIÓN DE BEBIDAS FUNCIONALES CON CAPACIDAD ANTIOXIDANTE A
BASE DE FRUTAS Y VERDURAS

Método de extracción de antioxidantes



Referencias

Abderrahim F, Estrella S, Susín C, Arribas SM, Gonzáles MC, Condezo-Hoyos L. *J Med Food*. 2011 May; 14(5):517-27

Sara Arranz, Fulgencio Saura Calixto. *Journal of Cereal Science*, Volume 51, issue 3, May 2010, Pages 313-318.

ANEXO 3:

Método DPPH-Extractable

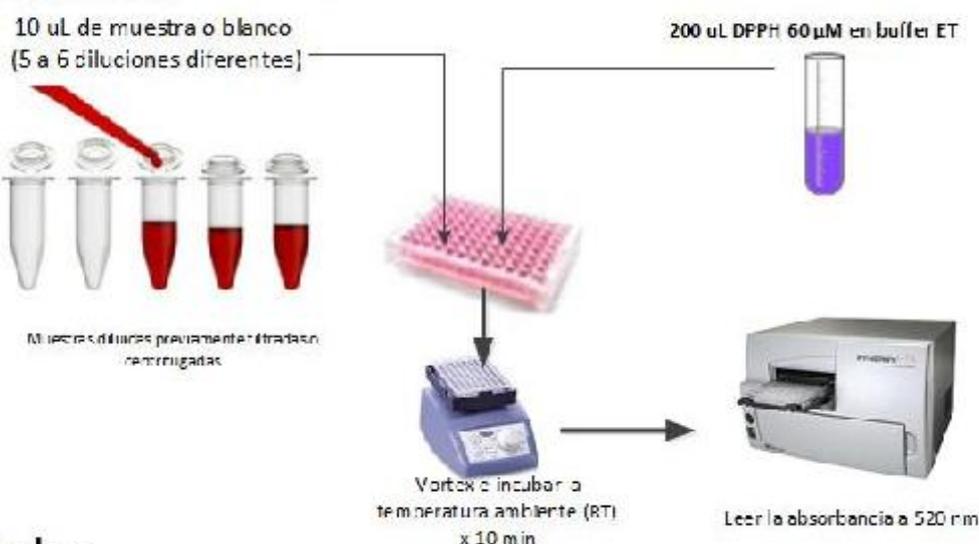


UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ FAUSTINO SANCHEZ CARRIÓN -
HUACHO

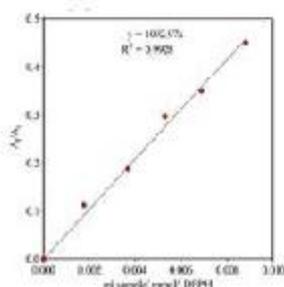
PROYECTO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA – ICA-MIP

FORMULACIÓN DE BEBIDAS FUNCIONALES CON CAPACIDAD ANTIOXIDANTE A
BASE DE FRUTAS Y VERDURAS

Protocolo Capacidad Antioxidante – SCI



Cálculos:



Ej=X= concentración (dilución) muestras
Ej=Y= porcentaje de inhibición
Control= 10 µL Buffer ET + 200 µL DPPH 60 µM

Pendiente = SCI (IC)
IC=Índice de Capacidad de Inhibición
(mMol DPPH/ml muestra)

Preparación de reactivos

Buffer Tris-HCl (10 mM pH = 7.5):

W µ Tris base = 0.0503 g — disolver en 20 mL de agua — ajustar el pH a 7.5 con HCl — ajustar el volumen a 25 mL en una jiala

Buffer MET: Mezclar buffer Tris-HCl (10 mM pH = 7.5) con Metanol (1:1 v/v)

DPPH stock 10 mM: 0.0157 g — disolver en etanol — ajustar el volumen a 5 mL en una jiala

120 µL DPPH stock



Ajustar el volumen a 20 mL con buffer MET en una jiala aferada

DPPH 60 µM

ANEXO 5

Polifenoles totales



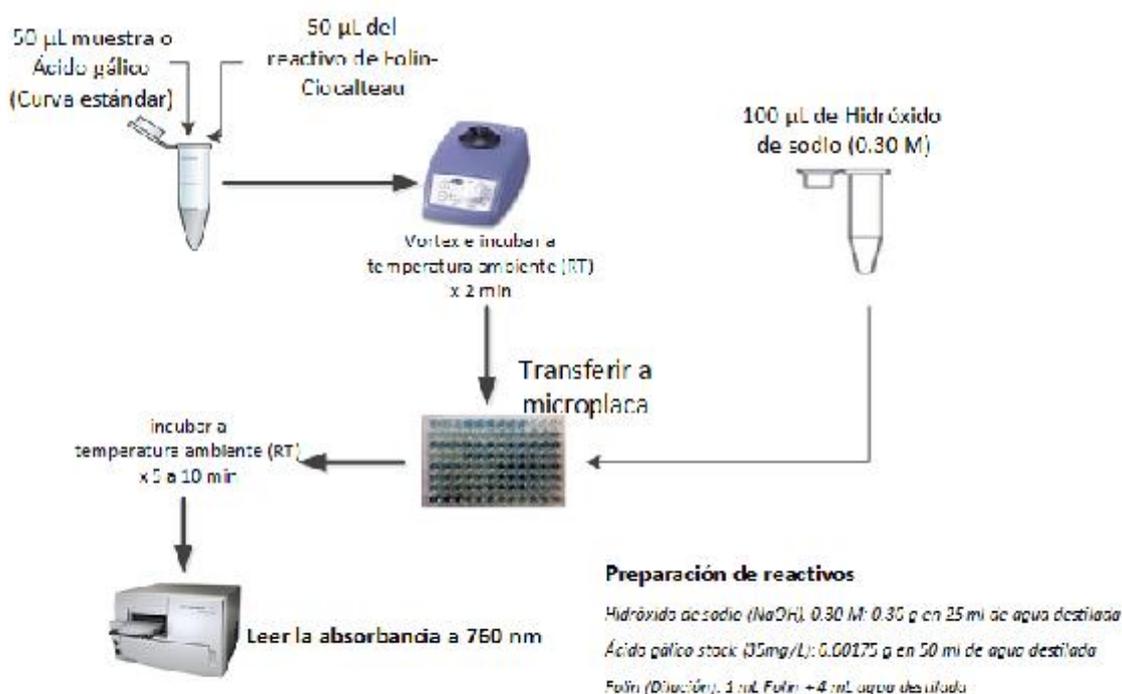
UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ FAUSTINO SÁNCHEZ CARRIÓN - HUACHO

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN MULTIDISCIPLINARIA

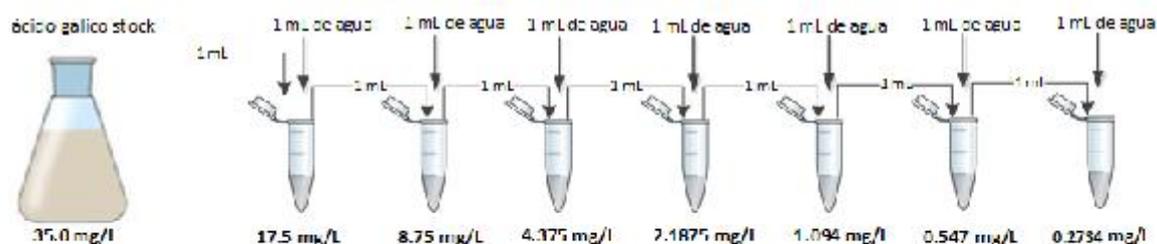
FORMULACIÓN DE BEBIDAS FUNCIONALES CON CAPACIDAD ANTIOXIDANTE A BASE DE FRUTAS Y VERDURAS

Protocolo

Polifenoles totales



Dilución seriada: Curva estándar



Referencia

Magalhães, I.M., Santos, F., Segundo, M.A., Reis, S., Lima, J.L.F.C. (2010). Rapid microplate high-throughput methodology for assessment of Folin Ciocalteu reducing capacity. *Talanta* 83(2), 141-147.

ANEXO 6

ANOVA Y PRUEBA TUKEY PARA DPPH-EXTRACTABLE

ANOVA de un solo factor: DPPH-Extractable vs. Tratamiento

* NOTA * No es posible dibujar la gráfica de intervalo para el procedimiento de Tukey. Las gráficas de intervalo para las comparaciones son ilegibles con más de 45 intervalos.

Método

Hipótesis nula	Todas las medias son iguales
Hipótesis alterna	No todas las medias son iguales
Nivel de significancia	= 0,05

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles Valores
Tratamiento	12 Bayo, Calima, Capsula, Caraota, Ckamitaki, Ñuña Margarita, Ñuña pava, Palo, Pusac puncuy, Renkino, Rojo arriñonado, Ucayalino

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamiento	11	3168,50	288,046	135,50	0,000
Error	24	51,02	2,126		
Total	35	3219,52			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
1.45800	98,42%	97,69%	96,43%

Medias

Tratamiento	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Bayo	3	8,3383	0,0873	(6,6009; 10,0756)
Calima	3	36,66	3,80	(3,93; 38,40)
Capsula	3	5,076	0,234	(3,338; 6,813)
Caraota	3	21,031	0,871	(19,293; 22,768)
Ckamitaki	3	14,586	0,639	(12,848; 16,323)
Ñuña Margarita	3	14,463	0,420	(1,726; 16,200)
Ñuña pava	3	17,551	0,361	(15,813; 19,288)
Palo	3	12,099	1,568	(10,361; 13,836)
Pusac puncuy	3	13,958	0,909	(12,22; 15,695)
Renkino	3	17,435	1,017	(15,697; 19,172)
Rojo arriñonado	3	37,04	1,83	(35,30; 38,77)
Ucayalino	3	18,209	1,357	(16,472; 19,946)

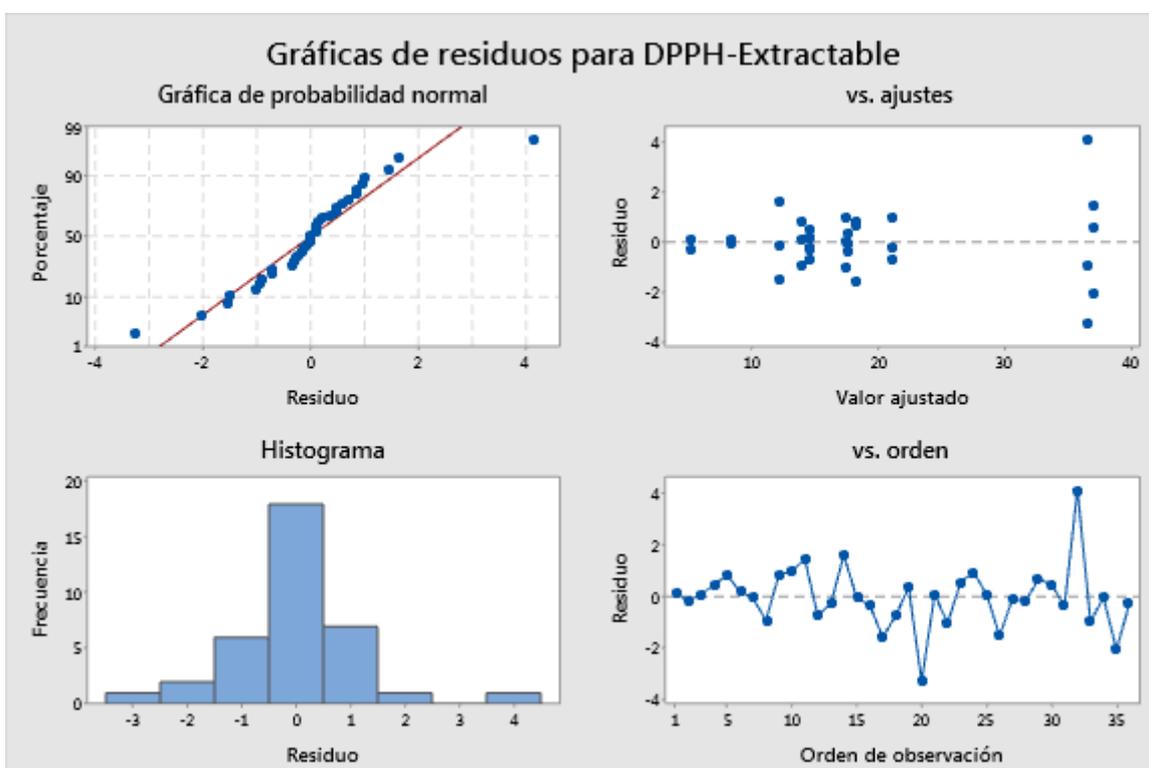
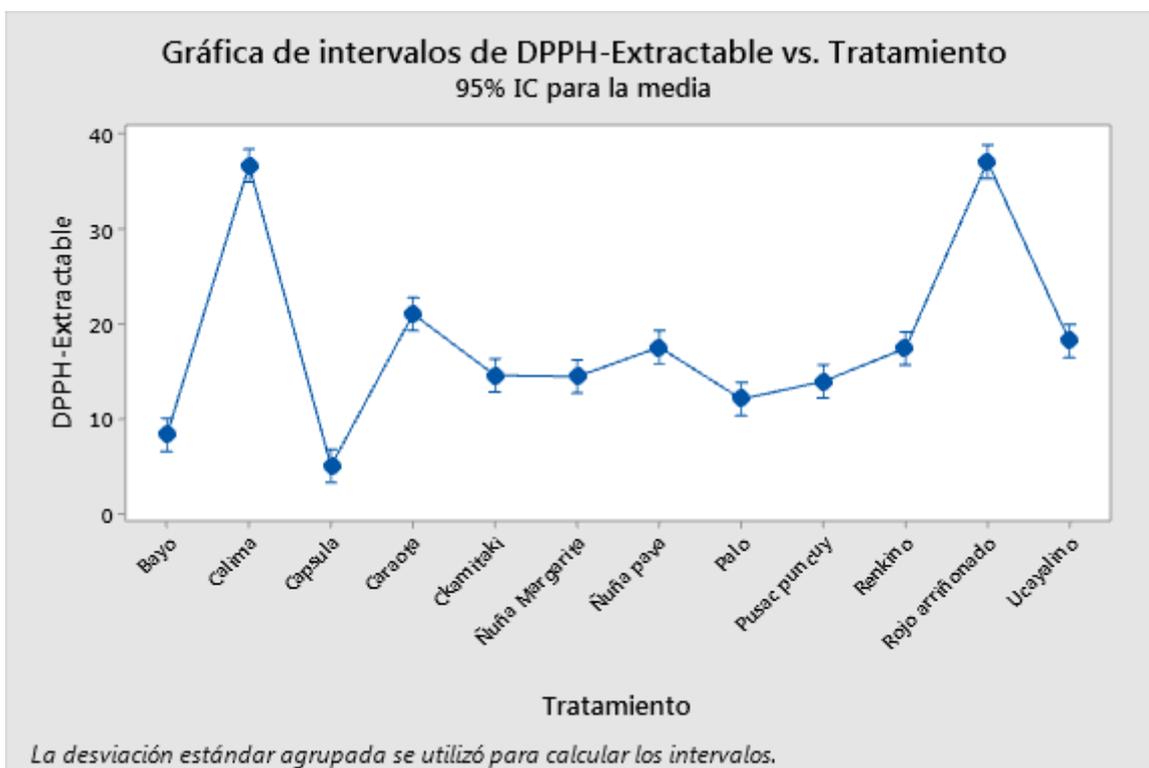
Desv.Est. agrupada = 1,45800

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Tratamiento	N	Media	Agrupación
Rojo arriñonado	3	37,04	A
Calima	3	36,66	A
Caraota	3	21,031	B
Ucayalino	3	18,209	B C
Ñuña pava	3	17,551	B C
Renkino	3	17,435	B C
Ckamitaki	3	14,586	C D
Ñuña Margarita	3	14,463	C D
Pusac puncuy	3	13,958	C D
Palo	3	12,099	D E
Bayo	3	8,3383	E F
Capsula	3	5,076	F

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ANEXO 7

ANOVA Y PRUEBA TUKEY PARA DPPH- QUENCHER

ANOVA de un solo factor: DPPH-Quencher vs. Tratamiento

* NOTA * No es posible dibujar la gráfica de intervalo para el procedimiento de Tukey. Las gráficas de intervalo para las comparaciones son ilegibles con más de 45 intervalos.

Método

Hipótesis nula	Todas las medias son iguales
Hipótesis alterna	No todas las medias son iguales
Nivel de significancia	= 0,05

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles Valores
Tratamiento	12 Bayo, Calima, Capsula, Caraota, Ckamitaki, Ñuña Margarita, Ñuña pava, Palo, Pusac puncuy, Renkino, Rojo arriñonado, Ucayalino

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamiento	11	8209,2	746,287	106,66	0,000
Error	24	167,9	6,997		
Total	35	8377,1			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
2,64521	98,00%	97,08%	95,49%

Medias

Tratamiento	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Bayo	3	22,42	1,93	(19,27; 25,57)
Calima	3	41,026	1,368	(37,874; 44,178)
Capsula	3	8,199	0,582	(5,047; 11,351)
Caraota	3	33,569	1,513	(30,417; 36,721)
Ckamitaki	3	36,884	1,542	(33,732; 40,036)
Ñuña Margarita	3	27,854	1,339	(24,702; 31,006)
Ñuña pava	3	31,62	2,64	(28,47; 34,77)
Palo	3	50,81	5,25	(47,66; 53,96)
Pusac puncuy	3	16,266	1,302	(13,114; 19,418)
Renkino	3	47,35	3,41	(44,20; 50,50)
Rojo arriñonado	3	66,13	3,76	(62,98; 69,28)
Ucayalino	3	40,81	3,09	(37,66; 43,96)

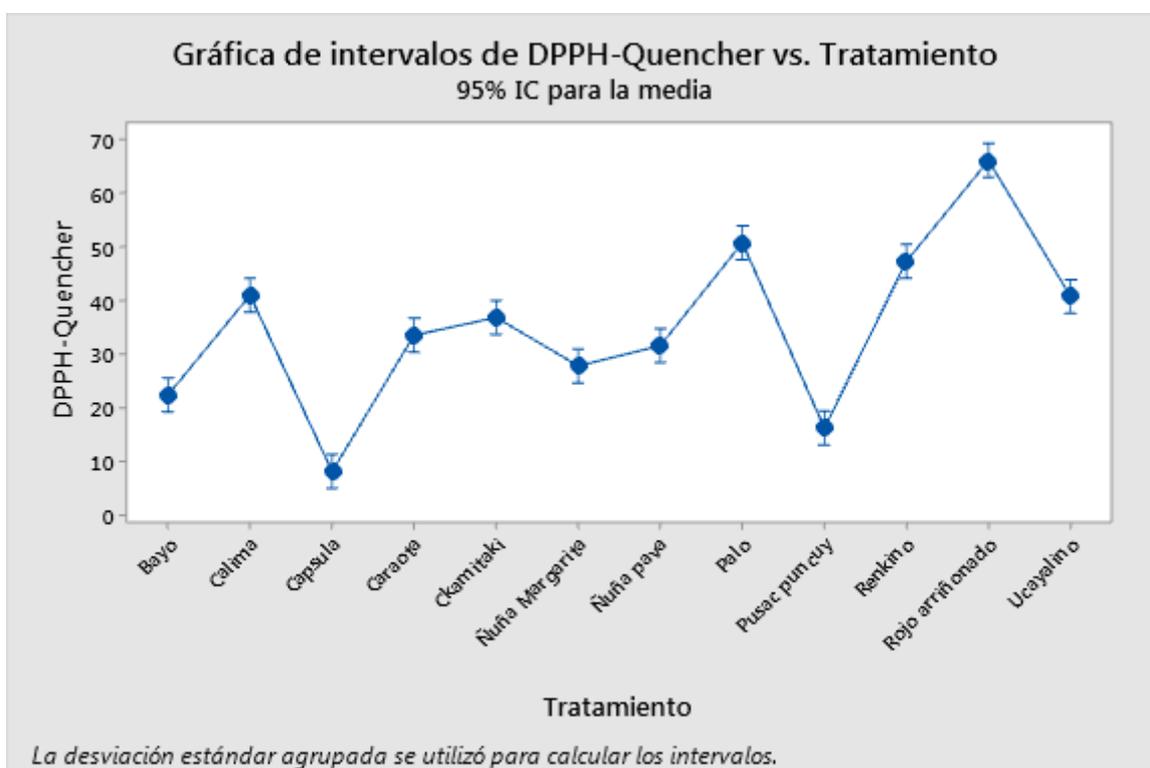
Desv.Est. agrupada = 2,64521

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

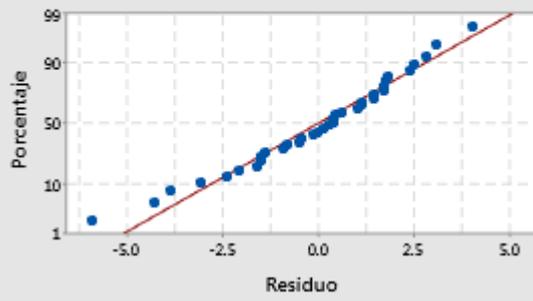
Tratamiento	N	Media	Agrupación
Rojo arriñonado	3	66,13	A
Palo	3	50,81	B
Renkino	3	47,35	B C
Calima	3	41,026	C D
Ucayalino	3	40,81	C D
Ckamitaki	3	36,884	D E
Caraota	3	33,569	D E F
Ñuña pava	3	31,62	E F
Ñuña Margarita	3	27,854	F G
Bayo	3	22,42	G H
Pusac puncuy	3	16,266	H
Capsula	3	8,199	I

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

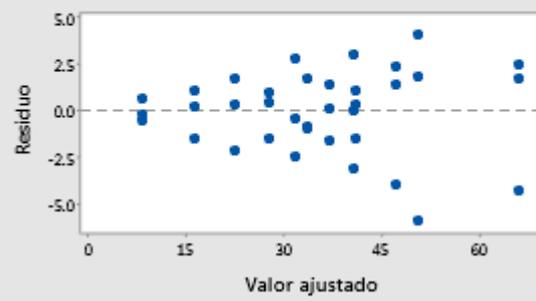


Gráficas de residuos para DPPH-Quencher

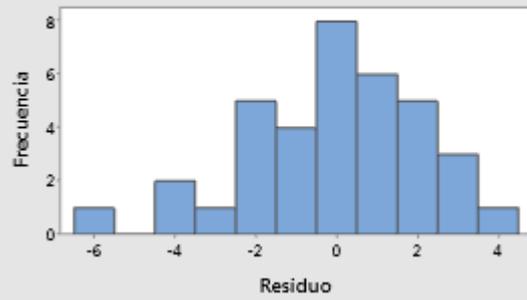
Gráfica de probabilidad normal



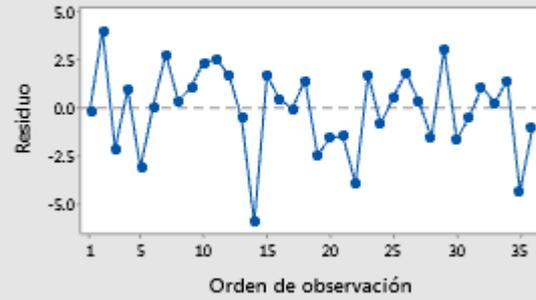
vs. ajustes



Histograma



vs. orden



ANEXO 8

ANOVA Y PRUEBA TUKEY PARA MÉTODO ABTS+

ANOVA de un solo factor: ABTS vs. Tratamiento

* NOTA * No es posible dibujar la gráfica de intervalo para el procedimiento de Tukey. Las gráficas de intervalo para las comparaciones son ilegibles con más de 45 intervalos.

Método

Hipótesis nula	Todas las medias son iguales
Hipótesis alterna	No todas las medias son iguales
Nivel de significancia	= 0,05

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles Valores
Tratamiento	12 Bayo, Calima, Capsula, Caraota, Ckamitaki, Ñuña Margarita, Ñuña pava, Palo, Pusac puncuy, Renkino, Rojo arriñonado, Ucayalino

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamiento	11	3395,94	308,722	157,90	0,000
Error	24	46,92	1,955		
Total	35	3442,86			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
1,39829	98,64%	98,01%	96,93%

Medias

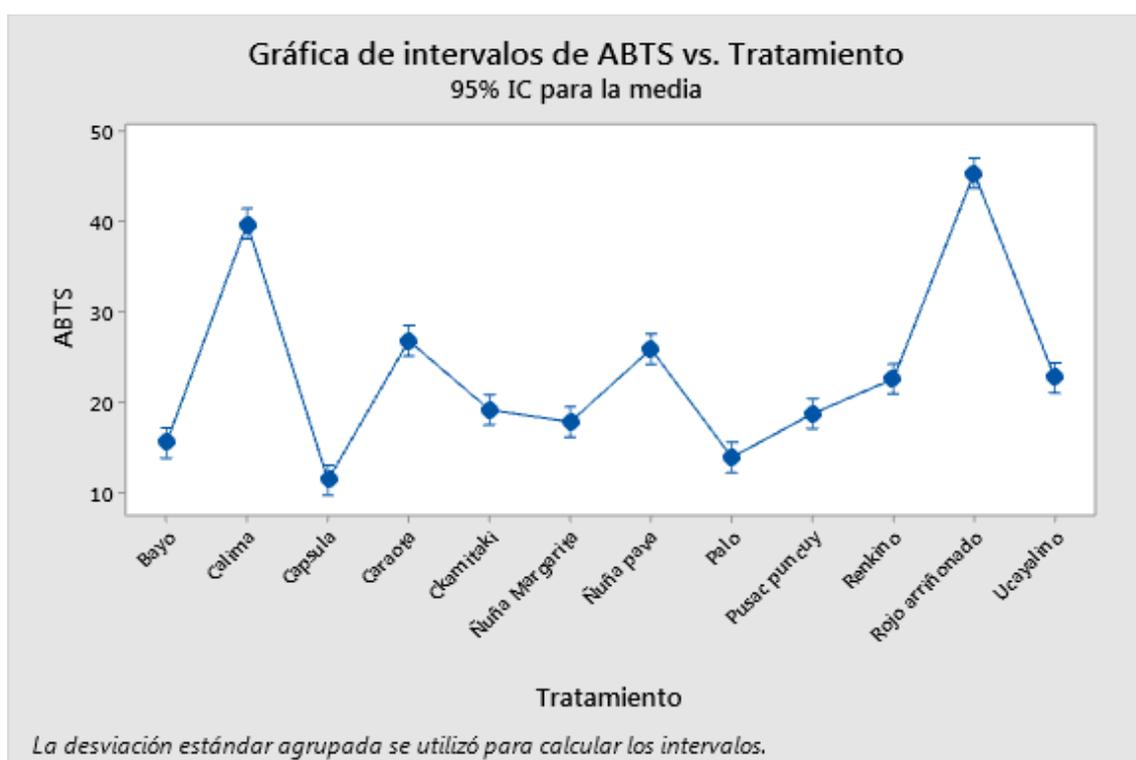
Tratamiento	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Bayo	3	15,479	1,162	(13,813; 17,145)
Calima	3	39,710	0,957	(38,043; 41,376)
Capsula	3	11,393	0,666	(9,727; 13,059)
Caraota	3	26,78	3,53	(25,12; 28,45)
Ckamitaki	3	19,153	1,271	(17,487; 20,819)
Ñuña Margarita	3	17,815	0,450	(16,149; 19,482)
Ñuña pava	3	25,853	0,853	(24,187; 27,519)
Palo	3	13,9034	0,1282	(12,2372; 15,5696)
Pusac puncuy	3	18,73	2,30	(17,06; 20,40)
Renkino	3	22,559	0,509	(20,893; 24,225)
Rojo arriñonado	3	45,2939	0,1500	(43,6277; 46,9601)
Ucayalino	3	22,679	0,345	(21,013; 24,346)

Desv.Est. agrupada = 1,39829

Comparaciones en parejas de Tukey

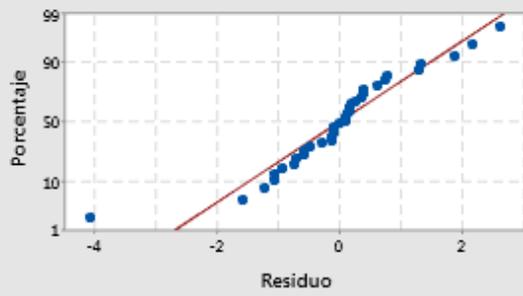
Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Tratamiento	N	Media	Agrupación
Rojo arriñonado	3	45,2939	A
Calima	3	39,710	B
Caraota	3	26,78	C
Ñuña pava	3	25,853	C D
Ucayalino	3	22,679	C D E
Renkino	3	22,559	D E
Ckamitaki	3	19,153	E F
Pusac puncuy	3	18,73	E F
Ñuña Margarita	3	17,815	F G
Bayo	3	15,479	F G H
Palo	3	13,9034	G H

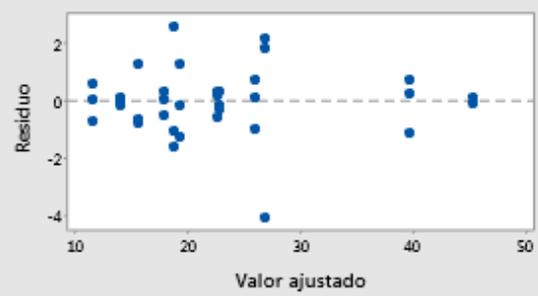


Gráficas de residuos para ABTS

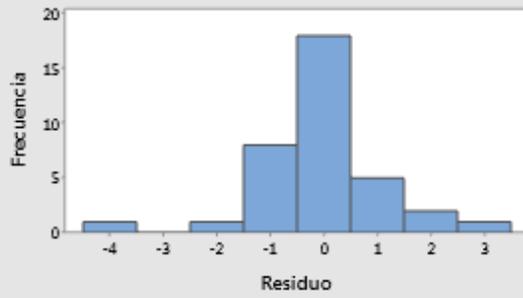
Gráfica de probabilidad normal



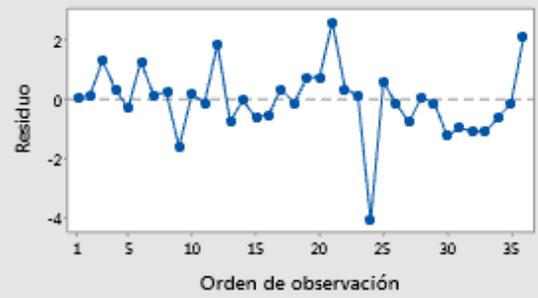
vs. ajustes



Histograma



vs. orden



ANEXO 9

ANOVA Y PRUEBA TUKEY PARA POLIFENOLES TOTALES

ANOVA de un solo factor: Polifenoles vs. Frijoles

* NOTA * No es posible dibujar la gráfica de intervalo para el procedimiento de Tukey. Las gráficas de intervalo para las comparaciones son ilegibles con más de 45 intervalos.

Método

Hipótesis nula	Todas las medias son iguales
Hipótesis alterna	No todas las medias son iguales
Nivel de significancia	= 0,05

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Frijoles	12	Bayo, Calima, Capsula, Caraota, Ckamitaki, Ñuña Margarita, Ñuña pava, Palo, Pusac puncuy, Renkino, Rojo arriñonado, Ucayalino

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Frijoles	11	11,0627	1,00570	50,13	0,000
Error	24	0,4815	0,02006		
Total	35	11,5442			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0,141637	95,83%	93,92%	90,62%

Medias

Frijoles	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Bayo	3	0,8318	0,0629	(0,6631; 1,0006)
Calima	3	2,043	0,255	(1,874; 2,212)
Capsula	3	0,6139	0,0527	(0,4451; 0,7827)
Caraota	3	1,2175	0,1095	(1,0488; 1,3863)
Ckamitaki	3	1,1484	0,1044	(0,9796; 1,3172)
Ñuña Margarita	3	1,3563	0,1625	(1,1875; 1,5250)
Ñuña pava	3	1,0295	0,1099	(0,8607; 1,1983)
Palo	3	0,8152	0,0443	(0,6465; 0,9840)
Pusac puncuy	3	0,9872	0,0713	(0,8184; 1,1559)
Renkino	3	1,6574	0,1311	(1,4886; 1,8262)
Rojo arriñonado	3	2,611	0,278	(2,442; 2,780)
Ucayalino	3	1,7183	0,0785	(1,5495; 1,8871)

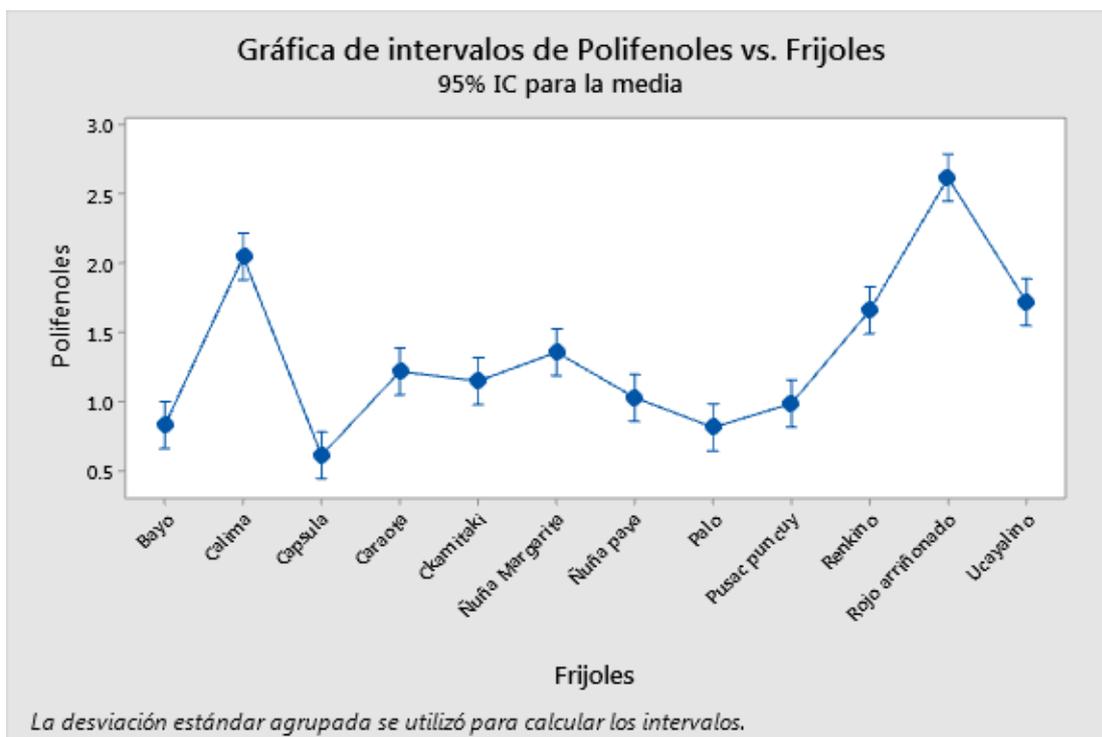
Desv.Est. agrupada = 0,141637

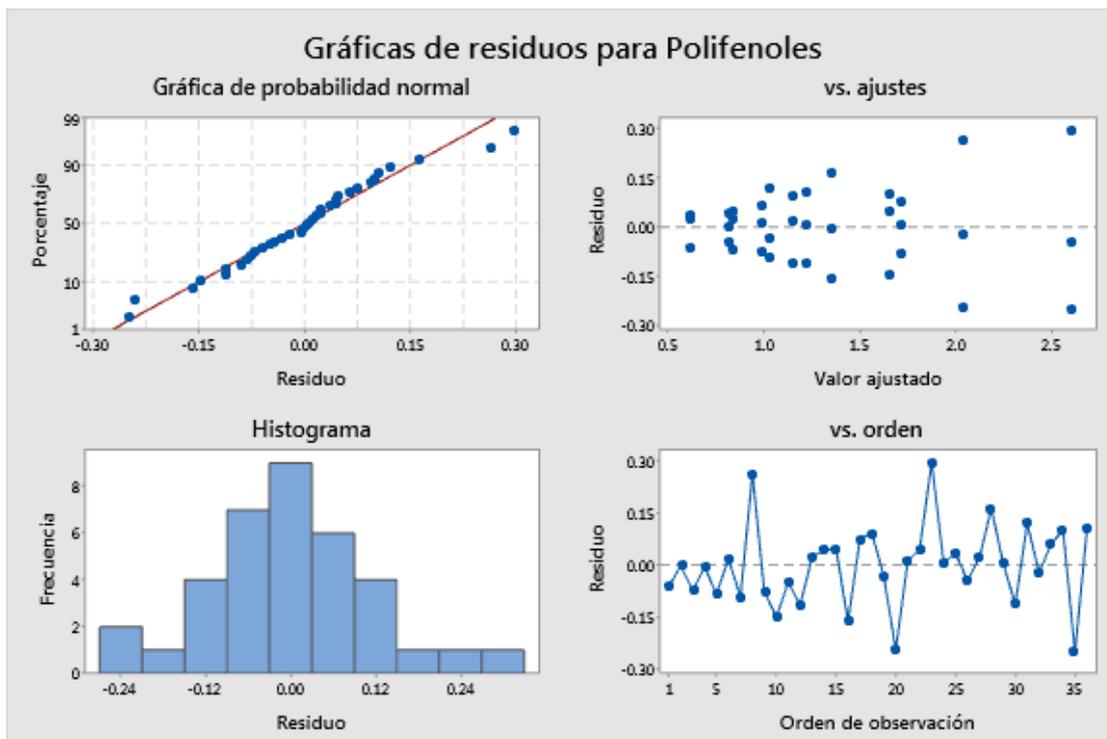
Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Frijoles	N	Media	Agrupación
Rojo arriñonado	3	2,611	A
Calima	3	2,043	B
Ucayalino	3	1,7183	B C
Renkino	3	1,6574	B C
Ñuña Margarita	3	1,3563	C D
Caraota	3	1,2175	D E
Ckamitaki	3	1,1484	D E
Ñuña pava	3	1,0295	D E F
Pusac puncuy	3	0,9872	D E F
Bayo	3	0,8318	E F
Palo	3	0,8152	E F
Capsula	3	0,6139	F

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.





FOTOGRAFIAS



