



UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA
La Universidad Católica de Loja

ÁREA BIOLÓGICA Y BIOMÉDICA

TÍTULO DE INGENIERO EN ALIMENTOS

**Capacidad antioxidante y fenoles en legumbres tradicionales sometidas a
tratamientos de cocción.**

TRABAJO DE TITULACIÓN

AUTORA: Medina Torres, Jefferson Alexander

DIRECTORA: Cruz Erazo, Claudia Teresa, Mgtr.

LOJA – ECUADOR

2019



Esta versión digital, ha sido acreditada bajo la licencia Creative Commons 4.0, CC BY-NY-SA: Reconocimiento-No comercial-Compartir igual; la cual permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra, mientras se reconozca la autoría original, no se utilice con fines comerciales y se permiten obras derivadas, siempre que mantenga la misma licencia al ser divulgada. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.es>

2019

APROBACIÓN DE LA DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Mgtr.

Claudia Teresa Cruz Erazo

DOCENTE DE LA TITULACIÓN

De mi consideración:

El presente trabajo de titulación: "Capacidad antioxidante y fenoles en legumbres tradicionales sometidas a tratamientos de cocción", realizado por Medina Torres, Jefferson Alexander ha sido orientado y revisado durante su ejecución, por cuanto se aprueba la presentación del mismo.

Loja, octubre del 2019

f.).....

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

“Yo Medina Torres, Jefferson Alexander, declaro ser autora del presente trabajo de titulación: Capacidad antioxidante y fenoles en legumbres tradicionales sometidas a tratamientos de cocción, de la titulación de Ingeniería en Alimentos, siendo la Mgtr. Claudia Teresa Cruz Erazo directora del presente trabajo; y eximo expresarme a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales. Además, certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

Adicionalmente declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 88 de Estatuto Orgánico de la Universidad Técnica Particular de Loja que en su parte penitente textualmente dice: “Forman parte del patrimonio de la Universidad la propiedad intelectual de investigaciones, trabajos científicos y tesis de grado o trabajos de titulación que se realicen con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad”

f.).....

Autor: Medina Torres Jefferson Alexander
Cédula: 1900621473

DEDICATORIA

El presente trabajo investigativo se lo dedico a la memoria de mi padre quien gracias a su amor siempre estuvo presente en toda mi formación y me ayudo siempre a seguir adelante paso a paso siempre guiándome.

A mi madre que gracias a todo su trabajo y sacrificio me enseñó que siempre debo esforzarme para poder conseguir siempre más conocimiento.

A mis hermanos que siempre estuvieron presentes, acompañándome en todo momento que quise renunciar, ustedes siempre me empujaron para seguir caminando y siempre alcanzar mis metas.

AGRADECIMIENTO

Agradezco primero a Dios por guiarme y darme fuerzas en los momentos de dificultad y debilidad.

Mi agradecimiento a la Magister Claudia Cruz quien con su dirección, conocimiento, enseñanza y colaboración permitió el desarrollo de este trabajo.

Agradezco a la UTPL y a mis docentes que gracias a sus enseñanzas hicieron que pueda crecer día a día como profesional.

Agradezco a mi novia Ana Cristina Vásquez quien fue mi apoyo principal en la culminación de mis estudios profesionales y quien gracias a todo su cariño es alguien indispensable en mí día a día.

Agradezco a mis amigos y compañeros de carrera quienes me ayudaron de manera desinteresada gracias por su ayuda y sabios consejos.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DE LA DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	ii
DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS.....	iii
DEDICATORIA.....	iv
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	vi
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
LISTA DE ABREVIATURAS	xi
RESUMEN.....	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
CAPÍTULO I	5
1. REVISIÓN BIBLIOGRAFÍA.....	5
1.1. Importancia nutricional de las legumbres.	6
1.2. Zarandaja.....	7
1.2.1. Composición de la zarandaja.	7
1.3. Firiguero.....	8
1.3.1. Composición del firiguero.....	9
1.4. Influencia de los métodos de cocción en la calidad nutricional y funcional.	10
1.5. Determinación de fenoles totales.	11
1.6. Antioxidantes.....	11
1.7. Determinación de la capacidad antioxidante	12
1.7.1. Método ABTS.....	12
1.7.2. Método FRAP.....	13
1.7.3. Método DPPH.	13
1.7.4. El coeficiente de inhibición IC ₅₀	13
2. METODOLOGÍA.....	14
2.1. Obtención de muestras.	15
2.2. Definición de métodos de cocción.	15

2.2.1.	Pruebas preliminares de la cocción de las muestras.	15
2.2.2.	Análisis sensorial de la cocción de las muestras.	16
2.3.	Preparación de la muestra	16
2.3.1.	Selección de la materia prima.	16
2.3.2.	Muestra cruda.	16
2.3.3.	Muestras cocidas	17
2.4.	Obtención de extractos de zarandaja y firiguero.....	19
2.5.	Determinación de fenoles totales.	21
2.6.	Fenoles totales.....	21
2.7.	Determinación de capacidad antioxidante.	22
2.7.1.	Curva de calibración.....	22
2.8.	Método ABTS.....	23
2.9.	Método FRAP.....	25
2.10.	Método DPPH.....	26
2.11.	Coeficiente de inhibición IC ₅₀	28
2.11.1.	Porcentaje de inhibición del radical DPPH (%I).	28
2.11.2.	Valor de IC ₅₀	28
2.12.	Análisis Estadístico.....	28
3.	RESULTADOS Y DISCUSIONES	29
3.1.	Resultados del firiguero.....	30
3.1.1.	Fenoles totales.....	30
3.1.2.	Resultados de capacidad antioxidante de firiguero.	32
3.1.3.	Resultados de coeficiente de inhibición IC ₅₀ del firiguero.....	35
3.2.	Resultados de zarandaja.....	36
3.2.1.	Fenoles Totales.....	36
3.2.2.	Resultados capacidad antioxidante.....	38
3.3.	Resultados de coeficiente de inhibición IC ₅₀ de zarandaja.....	41
	CONCLUSIONES.....	43
	RECOMENDACIONES.....	44
	BIBLIOGRAFÍA.....	45
	ANEXOS	59
	ANEXO 1. Encuesta de investigación.	60
	ANEXO 2. Formato de análisis sensorial.	63
	ANEXO 3. Población y tamaño de muestra	64
	ANEXO 4. Preparación de reactivos para las extracciones.....	65

ANEXO 4. Datos de cuantificación de método de fenoles de firiguero.	66
ANEXO 4.2 Cuantificación del contenido fenólico de firiguero.	68
ANEXO 5. Datos de cuantificación del método ABTS de firiguero.	69
ANEXO 5.1 Curva de calibración para ABTS de firiguero.	70
ANEXO 5.2 Cálculos del método ABTS.	70
ANEXO 6. Datos de cuantificación del método FRAP de firiguero.	72
ANEXO 6.2 Cálculos del método FRAP.	74
ANEXO 7. Cuantificación del método DPPH de firiguero.	75
ANEXO 7.1 Curva de calibración para DPPH de firiguero.	76
ANEXO 7.2 Cálculos del método DPPH.	77
ANEXO 8 Análisis estadístico	77

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición nutricional de zarandaja.....	8
Tabla 2. Composición química de zarandaja.	8
Tabla 3. Composición nutricional del firiguero.....	9
Tabla 4. Composición química del firiguero.	10
Tabla 5. Sectores Encuestados.	15
Tabla 6. Tiempos empleados en cocción de legumbres.....	16
Tabla 7: Preparación de estándares de Trolox.....	23
Tabla 8: Preparación de estándares	25
Tabla 9: Resultados de fenoles totales en base húmeda.	30
Tabla 10: Resultados de ABTS, FRAP y DPPH en base húmeda.....	32
Tabla 11. Coeficiente de inhibición IC ₅₀	35
Tabla 12: Resultados de capacidad de antioxidante de fenoles de zarandaja en base húmeda.	36
Tabla 13. Cuantificación de la actividad antioxidante de zarandaja por el método Fenoles Totales.....	37

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Zarandaja (<i>Lablab purpureus</i> L. Sweet).....	7
Figura 2: <i>Firiguero</i> (<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp).....	8
Figura 3: Proceso de cocción de legumbres.	18
Figura 4: A) Molino ultra centrífugo RETSCH ZM200. B) Bolsas de aluminio con zarandaja y firiguero.....	17
Figura 5: A) Liofilizador equipo LABCONCO freezone 12. B) Bolsas de aluminio con zarandaja y firiguero.....	19
Figura 6: Esquema de la extracción de antioxidantes.	20
Figura 7: A) Agitador magnético. B) Centrífuga. C) Muestra de sobrenadante firiguero.	21
Figura 8. Método de fenoles totales.	22
Figura 9. Método ABTS.	24
Figura 10. Método FRAP.	26
Figura 11. Método DPPH.....	27
Figura 12. Cuantificación de la capacidad antioxidante de firiguero por el método de Fenoles Totales.....	31
Figura 13. Cuantificación de la capacidad antioxidante de firiguero por el método ABTS. ...	33
Figura 14. Cuantificación de la capacidad antioxidante de firiguero por el método FRAP. ...	33
Figura 15: Cuantificación de la capacidad antioxidante de firiguero por el método DPPH....	34
Figura 16. Cuantificación de la capacidad antioxidante de firiguero por el método IC ₅₀	36
Figura 17. Cuantificación de la actividad antioxidante de zarandaja por el método ABTS....	39
Figura 18. Cuantificación de la actividad antioxidante de zarandaja por el método FRAP. ..	40
Figura 19. Cuantificación de la actividad antioxidante de zarandaja por el método DPPH. ..	41
Figura 20: Resultados de coeficiente de inhibición IC ₅₀ zarandaja.	42
Figura 21: Cuantificación de la actividad antioxidante de zarandaja por el método IC ₅₀	42

LISTA DE ABREVIATURAS

ABTS: 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acido)

Abs: Absorbancia

°C: Grados centígrados

DPPH: 2,2-difenil-1-picrihidracil

FRAP: Capacidad de reducción férrica del ion

g: Gramo

HCl: Ácido clorhídrico

mL: Mililitro

M: Molar

nm: Nanómetro

%: Porcentaje

TROLOX: Ácido 6 – hidroxí – 2, 5, 7, 8 – tetrametilcromo – 2 ácido carboxilo

TPTZ: 2, 4, 6 – tripiridil-s-triazina

μL: Microlitro

μmol ET/g: Micromoles equivalentes de Trolox/gramo

mg EAG/100 g: Miligramos equivalentes de ácido gálico/100 gramos de muestra

RESUMEN

En la presente investigación se evaluó los efectos de los métodos domésticos de cocción en los compuestos antioxidantes y fenoles totales de zarandaja (*Lablab purpureus* (L.) Sweet) y firiguero (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). Los granos fueron obtenidos en el cantón Macará la zarandaja y el firiguero en el cantón Zapotillo, de la provincia de Loja. Se aplicó una encuesta sectorizada en la ciudad de Loja para definir los métodos de cocción y tiempo de remojo más utilizados por las familias de la ciudad de Loja. Para la determinación de los tiempos de cocción, se realizó un análisis sensorial. Se utilizaron los métodos de cocción a ebullición y presión, las muestras cocidas fueron liofilizadas. Para la obtención de los extractos se trabajó con solventes metanol/agua y acetona/agua. Con los extractos de muestras crudas y cocidas, se evaluaron la capacidad antioxidante usando los métodos ABTS, FRAP, DPPH y contenido fenólico además se determinó IC₅₀. Los mejores resultados en contenido fenólico fueron en el grano crudo del firiguero (759,88 ± 41,76 mg EAG/100 g) y en grano crudo en zarandaja (1131,48 ± 0,03 mg EAG/100 g).

PALABRAS CLAVES: capacidad antioxidante, métodos de cocción, Fenoles totales, IC₅₀, *Lablab purpureus* (L.) Sweet y *Vigna unguiculata* (L.) Walp.

ABSTRACT

In the present investigation, the effects of domestic cooking methods antioxidants and total phenolics compounds of zarandaja (*lablab purpureus* (L.) Sweet) and firiguero (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) was evaluated. Grains were obtained in the canton Macara the zarandaja and firiguero in Zapotillo canton, in the province of Loja. A sectorized survey in the city of Loja was applied to define the cooking methods and time most used by families in the city of Loja soak. To determine cooking times, a sensory analysis was performed. cooking methods to boiling and pressure were used, samples cooked lyophilised. To obtain the extracts worked with solvent methanol / water and acetone / water. With sample extracts raw and cooked, antioxidant capacity using ABTS, FRAP, DPPH and phenolic content was determined IC50 methods further evaluated. The best results were phenolic content in the raw grain firiguero (759.88 ± 41.76 EAG mg / 100 g) grain and oil in zarandaja (1131.48 ± 0.03 EAG mg / 100 g).

KEY WORDS: antioxidant capacity, cooking methods, total phenols, *Lablab purpureus* (L.) Sweet y *Vigna unguiculata* (L.) Walp.

INTRODUCCIÓN

Las legumbres son consideradas por la población como un cultivo de subsistencia, su consumo está más difundido en los países en vías de desarrollo, tiene una importancia especial para los países de bajos ingresos y con déficit de alimentos (FAO, 2003; FAO, 2016;). En Ecuador, el 14,8% de la superficie cultivable corresponden al grupo de legumbres, estas son cultivadas en monocultivos, asociación, intercaladas o en rotación con otros cultivos y se cosechan 161455 hectáreas en grano seco o tierno. En la ciudad y provincia de Loja se encuentra una de las áreas productoras con mayor potencial de adaptabilidad, siendo Zapotillo uno de los cantones de mayor producción y con una temperatura media anual de 24,9 °C haciéndola una zona adecuada para el desarrollo de cultivo de legumbres, por lo que juega un rol muy importante en el manejo sostenible en la alimentación y agricultura (INIAP, 2012; Quinga, 2017).

La zarandaja (*Lablab purpureus* L. Sweet) es una de las legumbres menos consumidas a nivel del país, lo que puede ser debido a que su producción es escasa y a la falta de difusión de sus propiedades nutricionales (Shaahu, Kaankuka, & Okpanachi, 2015).

El firiguero (*Vigna unguiculata* (L.) Walp), es otra legumbre poco consumida en el país y reconocida como una fuente potencial de proteínas y otros nutrientes (Siddhuraju & Becker, 2007). Las semillas contienen aproximadamente 0,18 – 0,59 % de taninos (Reddy, Pierson, Sathe, & Salunkhe, 1985), ácidos fenólicos, ácidos cinámico y ferúlico (Cai, R.; Hettlarachchy, N.; Jalaluddin, 2003; Sosulski & Dabrowski, 1984; Siddhuraju & Becker, 2007).

Las legumbres no pueden ser consumidas crudas por el ser humano, ya que contienen taninos y fitatos, factores antinutricionales que inhiben la absorción de minerales y proteínas; para poder aprovechar los beneficios de las legumbres es necesario un tratamiento térmico previo a su consumo (Wang, N; Hache & Gawalko, E; 2008).

Se conoce la capacidad antioxidante de muchas legumbres por contener compuestos de gran interés en la actualidad como los antioxidantes que son moléculas capaces de retardar o prevenir la disminución y muerte de las células que causan los radicales libres. (Gutiérrez, A; Ledesma, L ; García, I.; Grajales, 2006). Para la cuantificación de capacidad antioxidante en una especie se emplean varios métodos como (DPPH, FRAP y ABTS). El método el cual se basa en la estabilidad del radical 1,1 – difenil-2-picrihidrazil (DPPH) (Marina, Avella, Alberto, García, & Cisneros, 2008). El ensayo FRAP determina la capacidad antioxidante de la muestra de acuerdo con su capacidad de reducción de hierro. El método ABTS se basa en la oxidación

directa del ABTS incoloro por PMS/PDS para generarlo el ABTS + de color verde a pH neutro y temperatura ambiente (Zou, Huang, Zhu, Cui, & Yuan, 2019). La eficiencia antioxidante utilizando el reactivo Folin-Ciocalteu es uno de los métodos utilizados para medir la capacidad reductora de las muestras, que permite inferencia de su compuesto fenólico (Huang, Boxin, & Prior, 2005; Paseto, R.; Trindade, M.; De Melo, 2018).

Considerando lo antes expuesto, en el presente estudio se propuso evaluar los efectos de los métodos domésticos de cocción en los compuestos antioxidantes y fenoles totales de zarandaja (*Labiab purpureus* (L.) Sweet) y firiguero (*Vigna unguiculata* (L.) Walp), con la finalidad de proporcionar información sobre la capacidad antioxidante de estas legumbres, para que se pueda promover su consumo y aportar a las iniciativas que buscan incluir estos alimentos en la dieta cotidiana de la población.

Para el desarrollo de esta investigación, la zarandaja y el firiguero fueron obtenidas de proveedores de los cantones Macará y Zapotillo, provincia de Loja, estas dos legumbres fueron elegidas realizando encuestas en la zona urbana de la ciudad de Loja, se les aplicó dos métodos de cocción (presión y ebullición), se trituró a un tamaño de partícula de 500 µm por medio del método de maceración dinámica, usando solventes metanol-agua 50:50 y acetona-agua 70:30. Obtenidos los extractos se procedió a la determinación del contenido de fenoles totales, con el método Folin-Ciocalteu (Moreno-Escamilla et al., 2015), y se determinó la capacidad antioxidante usando los métodos ABTS, DPPH y FRAP (Sadh, P.; Saharah, P.; Duhan, 2017).

CAPÍTULO I

1. REVISIÓN BIBLIOGRAFÍA

1.1. Importancia nutricional de las legumbres.

Las legumbres pueden ser utilizadas en alimentación humana y animal, las cuales forman una parte nutritiva y económica debido a su presencia en la alimentación de las poblaciones de todo el mundo (FAO, 2003). Presentan beneficios significativos para la nutrición humana y para la salud cuando se consumen con regularidad en dietas bien equilibradas, provocando una menor incidencia de enfermedades cardiovasculares, cáncer y diabetes entre otras (Mazur, Duke, Wähälä, Rasku, & Adlercreutz, 1998; Valsta et al., 2003).

El valor nutritivo de las leguminosas se debe esencialmente a su contenido proteico, las mismas que contienen el doble de proteínas que los cereales, a la vez son fuente importante de carbohidratos complejos, algunos de absorción lenta como almidón y otros no digeribles como los componentes de la fibra alimentaria (Perales, L.; Rodríguez, P.; Valero, T.; Ruiz, E.;Ávila, J.M.;Valera, 2017).

Aportan gran cantidad de hidratos de carbono y fibra dietética; contribuyen una buena fuente de proteínas, minerales y vitaminas; y son alimentos con un bajo contenido de grasa y además son ricas en ácidos grasos insaturados, es decir, grasas beneficiosas para la salud Las mismas que contienen el doble de proteínas que los cereales (Perales, L., et al., 2017).

Las leguminosas, al ser de origen vegetal, contienen una elevada cantidad de fitoquímicos, sustancias biológicamente activas, con efectos beneficiosos para la salud como por ejemplo, protección cardiovascular, protección frente al cáncer y mantenimiento de la salud gastrointestinal. El sitosterol, estigmasterol y el campesterol son los fitoesteroles de mayor concentración. Además, también se puede encontrar ácidos fenólicos, de los cuales el ácido ferúlico (antioxidante) es el más abundante; aportan también flavonoides glicosidados, antocianinas y taninos, siendo estos últimos responsables del color de la capa externa de la semilla (Singh, B., Singh, JP, Shevkani, 2017; Bronte, 2017).

1.2. Zarandaja.



Figura 1. Zarandaja (*Lablab purpureus* L. Sweet).

Fuente: El autor.

Elaboración: El autor.

La zarandaja (*Lablab purpureus* (L.) Sweet) es una legumbre nativa de Asia y África (Pengelly & Maass, 2001; Vidigal et al., 2018; Singh & Abhilash, 2019). Familia Fabaceae también conocida como frijol egipcio, frijol Jacinto, zarandaja y fujiame entre otros (Pengelly & Maass, 2001). Es una legumbre que crece en zonas tropicales y subtropicales (Laguna, 2001). Introducida en algunos países como Panamá, Bolivia, Colombia y Ecuador (Pengelly & Maass, 2001; Cevallos Caillagua, 2015). Se estima que la siembra en promedio es de 2,5 a 3 toneladas métricas por hectárea (Granda, 2009). En el cantón Zapotillo provincia de Loja se obtiene un estimado de cosecha de 30 quintales por hectárea, por un tiempo de 6 meses (MAGAP-Zapotillo, 2017).

En el Ecuador el cultivo de la zarandaja no es aprovechado, ya que son pocas las zonas en donde se realizan dichos cultivos, a su vez dependiendo de la variedad y la tecnología empleada (MAGAP, 2015; Cevallos Caillagua, 2015).

1.2.1. Composición de la zarandaja.

El grano crudo es rico en proteínas, carbohidratos y minerales, además, es fuente de vitamina del complejo B, tiene un alto contenido en fibra. La fibra soluble en los granos ayuda mantener niveles saludables de colesterol y disminuye la velocidad a la que la glucosa es liberada en el sistema, lo que impacta positivamente en el peso corporal y riesgo de diabetes (Granda, 2009). Además, contiene grandes cantidades de vitaminas (niacina y ácido ascórbico), minerales, taninos e inhibidores de tripsina. En la tabla 1 se presenta la composición nutricional de la zarandaja (Kala, BK.; Soria, PT.; Mohan, VR; Vadivel, 2010; Cevallos Caillagua, 2015).

Tabla 1. Composición nutricional de zarandaja.

Componentes	Valores (mg/100g)
Carbohidratos totales (%)	54,2 - 63,3
Proteínas (%)	22,4 - 31,3
Calcio	36 - 53,5
Fibra (%)	4,9 - 6,9
Fósforo	388 - 483
Fósforo fitato	282 - 380
Hierro	5,9 - 6,9

Fuente: Deka & Sarkar, (1990); Kamatchi, Soris, Mohan, & Vadivel, (2010).

Elaboración: El autor.

La zarandaja contiene una composición química bien equilibrada, además es una fuente de antioxidantes naturales (Tabla 2).

Tabla 2. Composición química de zarandaja.

Componentes	Valores (mg/100g)
Contenido de flavonoides	42,5 ± 5,7
Quercetina	33,1 ± 0,3
Fenoles totales	0,2 - 0,3
Taninos	0,2 - 0,4
Ácido fítico	314 - 421
Cianuro de hidrógeno	0,2 - 0,3
Inhibidor de tripsina	24,3 - 34,5

Fuente: Kamatchi, Soris, Mohan, & Vadivel, (2010); Motalib et al., (2012)

Elaboración: El autor

1.3. Firiguero.



Figura 2: Firiguero (*Vigna unguiculata* (L.) Walp)

Fuente: El autor

Elaboración: El Autor

El firiguero (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) también conocida en países latino americanos como xpelon, perome, cachito, frijol de costa, caupí, firiguero, chileno y boca negra; es un cultivo de los trópicos y subtrópicos, especialmente en el oeste de África, Asia y América Central y del Sur (Singh, B.; Ajeigbe, H.A; Tarawali, S.A ; Fernandez-Rivera, S ; Abubakar, 2003).

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO, 2003) se obtienen aproximadamente 5,8 millones de toneladas de firiguero seco en el mundo con un mínimo de 11 millones de hectáreas plantadas (Xiong H, Shi A, Mou B, Qin J, Motes D, 2016). En el cantón Zapotillo de la provincia de Loja se obtiene un estimado de cosecha de 20 a 25 quintales por hectárea, por un tiempo de 6 meses (MAGAP-Zapotillo, 2017). Zapotillo es un cantón con mayor producción de legumbres, el cual debido a su ubicación geográfica posee un clima tropical durante casi todo el año, manteniendo una temperatura promedio de entre 25-30°C, siendo este clima el adecuado para la producción de legumbres como zarandaja y firiguero (MAGAP-Zapotillo, 2017).

1.3.1. Composición del firiguero.

La valor nutricional (Tabla 3) de las proteínas, se aprecia que es relativamente pobre en aminoácidos sulfurados como cisteína, metionina y otros como triptófano en comparación con cereales, pero es rica en lisina, y con buen contenido de tirosina, leucina y fenilalanina (Maia, F. M. M., Oliveira, J. T. A., Matos, M. R. T., Moreira, R. A., & Vasconcelos, 2000; Onwuliri & Obu, 2002; ; Frota, K. d. M. G., Soares, R. A. M., & Arêas, 2008; Carvalho et al., 2012; Solanilla Duque, 2012). Por lo cual se hace necesario complementar leguminosas con cereales en la dieta (Duranti, 2006). Además, tiene una buena fuente de minerales como hierro, zinc, potasio, fósforo y magnesio (Frota et al., 2008; Vargas et al., 2012).

Tabla 3. Composición nutricional del firiguero.

Componentes	Valores
Proteína	17,4 y 39,70 g/100g
Fibra cruda	0,65 g/100g y 5,10 g/100g
Carbohidratos	50 y 75 g/100g
Potasio	1280 y 2899 mg/100g
Calcio	5,21 y 946 mg/100g
Magnesio y manganeso	1,82 - 350 mg /100g
Hierro	2,6 -21,6 mg/100g
Zinc	2,7- 8,9mg/100g
Fósforo	251- 510 mg/100g
Sodio	0,1 - 204 mg/100g

Fuente: Vargas et al., (2012).

Elaboración: El autor.

Finalmente, cabe decir que estudios nutricionales del grano están relacionados con alimentación animal ya que buscan alternativas al uso de la torta de soya (Solanilla Duque, 2012).

La composición química del firiguero (Tabla 4) se presenta sus principales valores.

Tabla 4. Composición química del firiguero.

Componentes	Valores (mg/100g)
Fenoles	0,04 - 934,38
Polifenoles	587 y 987
Taninos	0,33 - 874
Alcaloides	1,28 - 1,50
Saponinas	0,11 - 440

Fuente: Vargas et al., (2012)

Elaboración: El autor.

La disposición en metabolitos secundarios va directamente relacionado con su contenido fenólico que tiene valores desde 0,04 mg/100g hasta 934.38 mg/100 g en grano crudo (Cai, R.; Hettlarachchy, N.; Jalaluddin, 2003; Okwu, D.; Orji, 2007; Gutiérrez-Urbe, Romo-Lopez, & Serna-Saldívar, 2011; Samaniego, 2016). Los polifenoles ubicados en el epicarpio fluctúan entre 587 y 987 mg/100g, si el color de la cáscara del firiguero es más intenso se obtendrá mayor presencia de polifenoles (Punia, D.; Preet, 2000; Bezerra, Santelli, Oliveira, Villar, & Escalera, 2008; Samaniego, 2016). La concentración de taninos se ubican con valores entre 0,33 a 874 mg/100g (Duranti, 2006; Samaniego, 2016), y los alcaloides fluctúan entre 1,28 a 1,50 mg/mg/100g (Okwu, D.; Orji, 2007; Samaniego, 2016).

1.4. Influencia de los métodos de cocción en la calidad nutricional y funcional.

La cocción es el procedimiento capaz de realizar una transformación física y/o química en la textura, aspecto, composición y valor nutritivo de un alimento mediante la acción del calor, haciendo los alimentos más digeribles, y aumentando su vida útil y su seguridad alimentaria, habitualmente, presenta inconvenientes para las frutas y algunas hortalizas (Caracuel, 2008). Se generan pérdidas nutritivas, las cuales dependen del cuidado con que se les brinde a los alimentos de los agentes físicos (luz, oxígeno, temperatura, etc.). Sin embargo, puede afectar profundamente tanto la textura y el valor nutricional de las legumbres. Algunos estudios han demostrado una pérdida de vitaminas durante la cocción, dicha perdida varía con el tratamiento de cocción aplicado (Caracuel, 2008; Guillén, Mir-Bel, Oria, & Salvador, 2017). Así también la cocción térmica de las leguminosas mejora su valor nutricional mediante la reducción de antinutrientes como el ácido fítico, taninos y aumenta la digestibilidad de las proteínas y el almidón. Sin embargo, se dispone de información limitada sobre el impacto del procesamiento térmico de las leguminosas en la composición fitoquímica y las actividades antioxidantes (Teixeira-guedes, Oppolzer, Barros, & Pereira-wilson, 2019)

Además, la cocción empieza con elementos de transporte que realizan transferencia de masa y de energía, y que dependen de la naturaleza, tamaño y forma, y dependiendo de la intensidad calorífica se producirán cambios físicos y químicos en el producto mediante

movimiento de las moléculas dentro del alimento y del intercambio de sustancias químicas (Cengel, 2007).

Las marmitas cuentan con dos técnicas de cocción, a presión, que trabajan a una temperatura de trabajo fluctúa entre los 110 y 120 °C, que depende de la presión utilizada, y por otra parte la técnica clásica que llega a 100 °C (punto de ebullición del agua a 1 atm) y que demuestran ventajas como: mayor celeridad para lograr la cocción de los alimentos, mayor control de los tiempos de cocción, una importante economía de tiempos y ahorro de energía (Casp & April, 2003).

Kalogeropoulos et al., (2010) analizaron el contenido fenólicos en 14 variedades de leguminosas cocidas y reportaron una disminución significativa en su concentración después de la cocción, en cambio Zhang et al., (2017) mostraron una reducción significativa de tanino fenólico total y condensada, tanto en forma libre como en forma unida en lenteja hervida. De igual manera Xu & Chang, (2008) encontraron que remojar, hervir y cocinar al vapor afectó significativamente el contenido fenólico en guisantes, garbanzos y lentejas según el tipo de leguminosa y las condiciones de procesamiento (Pérez-Burillo et al., 2019).

1.5. Determinación de fenoles totales.

El método Folin-Ciocalteu se usa para la determinación de fenoles totales. Se basa en el uso del reactivo Folin Ciocalteu para la reducción de fenoles y seguidamente de la neutralización con carbonato sódico; este reactivo está constituido por una mezcla de ácido fosfotungstácico ($H_3PW_{12}O_{40}$) y ácido fosfomolibdico ($H_3PMO_{12}O_{40}$) que se reducen al oxidar compuestos fenólicos, dando como resultado óxidos azules de wolframio y molibdeno, dicha coloración posee una absorbancia máxima de 765 nm (Kuskoski et al., 2004).

1.6. Antioxidantes.

Los antioxidantes son sustancias que cuando están presentes, retardan e inhiben la oxidación de sustancias susceptibles al ataque de las especies reactivas del oxígeno (ROS). Todos los seres vivos que utilizan el oxígeno para obtener energía, liberan radicales libres, lo cual es incompatible con la vida a menos que existan mecanismos celulares de defensa que los neutralice (Sánchez, 2013). Los efectos de defensa de antioxidantes naturales en frutas y verduras están relacionados con tres grandes grupos: vitaminas, compuestos fenólicos y carotenoides (Thaipong, Boonprakob, Crosby, Cisneros-Zevallos, & Hawkins Byrne, 2006).

Un antioxidante dietético es una sustancia que forma parte de los alimentos de consumo cotidiano y que puede prevenir los efectos adversos de especies reactivas sobre las funciones

fisiológicas normales de los humanos (Coronado, M., Vega, S., Gutierrez, T., Vazquez, F & Radilla, 2015).

Los compuestos antioxidantes individuales no actúan solos. Actúan en combinación con otros antioxidantes, ya que las interacciones entre ellos pueden producir efectos sinérgicos o antagónicos en la capacidad antioxidante total (Vicente, 2017).

Los compuestos fitoquímicos que se encuentran en cereales, verduras, granos y vegetales son principalmente carotenoides, compuestos fenólicos, alcaloides y compuestos antioxidantes; son sustancias químicas que estando en concentraciones mucho más bajas que las de cualquier sustrato biológico oxidable, previene o retarda la oxidación de dicho sustrato (Speisky, 2006). Los antioxidantes tienen la capacidad de reaccionar con los radicales libres y así restringir los efectos maléficos al organismo. El cuerpo humano produce algunos antioxidantes endógenos o estos pueden ser consumidos a través de la dieta. La mayoría de los flavonoides tienen la capacidad de reaccionar con radicales libres y ejercer funciones antioxidantes en el organismo (Gómez, P. M.; Hurtado, M. C.; Mata, 2011).

1.7. Determinación de la capacidad antioxidante

Para determinar la capacidad antioxidante se usan diferentes métodos, que se basan en captar radicales libres en un tiempo determinado de interacción con un medio de reacción. Entre ellos se encuentran los métodos DPPH, ABTS, FRAP (Castañeda, Ramos, & Ibáñez, 2008)

1.7.1. Método ABTS.

El método de ABTS utilizado se basó en Re et al., (1999) con algunas modificaciones (Al-Laith, Alkhuzai, & Freije, 2015). Este método mide la capacidad de los antioxidantes naturales de eliminar radicales libres, se basa en la oxidación del radical ABTS (2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)) presente en la muestra con peróxido de hidrógeno para producir el radical catiónico, este radical obtiene un color verde azulado y estable (Prior, R. L., Wu, X., y Schaich, 2005), con máximo de absorción a 342 m, es muy soluble en agua y químicamente estable (Antolovich, M.; Prenzler, P.D.; Patsalides & McDonald, S.; Robards, 2002; Kuskoski, Asuero, García-parilla, Troncoso, & Fett, 2004). Es aplicado para compuestos puros o extractos de naturaleza hidrófila o lipófila y materiales biológicos. El radical ABTS* una vez generado por medio de enzimas (peroxidasa, mioglobina) pasan a presentar nuevas características con máximos de absorción a 414, 645, 734 y 815nm (Miller, N.;Rice-Evans, 1997 ; Robards,K.;Prenzler,P.;Tucker,G.; Swatsitang,P. Glover, 1999; Kuskoski et al., 2004).

1.7.2. Método FRAP.

Este método determina la reducción de las moléculas de capacidad de Fe III a Fe II de los polifenoles, el cual forma un color azul con tripidil triazina (TPTZ) que puede ser monitoreado por absorbancia a 593 nm (Cerón & Higuera, J.C.; Cardona, 2011), la cual se incrementa proporcionalmente con la cantidad presente en los antioxidantes (Roginsky & Lissi, 2005). Se ha argumentado que la capacidad para reducir el hierro se correlaciona poco con la estabilización de radicales libres; la oxidación o reducción de radicales para formar iones puede detener la oxidación en cadena y por lo tanto el poder reductor reflejaría la capacidad de un compuesto para regular el estado redox del plasma o tejidos. Adicionalmente, como los metales reducidos son propagadores de reacción en cadena peroxidación lipídica por el rompimiento de hidroperóxidos (Londoño, 2012). Este método es de bajo costo, rápido en su preparación y se obtiene buenos resultados y no necesita tratamientos previos.

1.7.3. Método DPPH.

La molécula de 1,1 –difeníl-2-picrilhidrazilo (α , α -difeníl- β -picrilhidrazilo; DPPH 1): se caracteriza por ser un radical libre estable en virtud de la deslocalización del electrón de reserva sobre la molécula en su conjunto, de modo que las moléculas no se dimerizan, como la mayoría de los demás radicales libres. La deslocalización también da un color violeta intenso, caracterizado por una banda de absorción de etanol centrada a aproximadamente 520 nm (Guija, Inocente, Ponce, & Zarzosa, 2015). Cada una solución de DPPH se mezcla con la de una sustancia que puede donar un átomo de hidrógeno, entonces esto da lugar a la forma reductora con la pérdida del color violeta intenso virando a amarillo pálido (Casanova, 2015). Se evalúa a una longitud de onda de 515 nm producida por la adición del antioxidante a la solución DPPH* (Saner, Samim, Karadag, Ayse, Ozcelik, 2009).

1.7.4. El coeficiente de inhibición IC₅₀.

El coeficiente de inhibición (IC₅₀) se define como la cantidad de antioxidante imprescindible para reducir la concentración inicial de DPPH al 50%, este valor se calcula trazando un porcentaje de inhibición frente a la concentración del extracto frente al correspondiente efecto de eliminación. El IC₅₀, como una medida de la capacidad de un compuesto para limpiar los radicales libres, tiene algunos errores cuando las concentraciones de radicales libres (J. Deng, Cheng, & Yang, 2011).

2. METODOLOGÍA

2.1. Obtención de muestras.

Para este estudio se trabajó con las legumbres: zarandaja (*Lablab purpureus*) y firiguero (*Vigna unguiculata*), las cuales fueron adquiridas directamente de los agricultores en el cantón Macará y cantón Zapotillo respectivamente de la provincia de Loja.

2.2. Definición de métodos de cocción.

Para la selección de los métodos de cocción en las legumbres, se empleó una encuesta que se aplicó en diferentes sectores de la ciudad de Loja (Tabla 5).

Tabla 5. Sectores Encuestados.

Sectores	Parroquias	Barrios
Sector 1	Sucre	Miraflores, El Pedestal, Gran Colombia, Clodoveo, Belén
	El Sagrario	Perpetuo Socorro, Cuarto Centenario.
Sector 2	El Valle	San Cayetano bajo, La Inmaculada, La Paz, Cdla. Del Maestro, Estancia Norte
Sector 3	San Sebastián	Pradera, Máximo Agustín Rodríguez (calles Bernardo Valdivieso, Bolívar y Sucre desde calle Lourdes hasta Cabo Minacho). Cdla. Rodríguez Witt.
Sector 4	Punzara	Tebaida, Argelia, San Isidro (Av. Pío Jaramillo hasta redondel UNL)
	El Sagrario y San Sebastián	Orilla occidental del río Zamora, calle Olmedo, desde la Puerta de la Ciudad hasta el Cabo Minacho

Fuente: Proyecto "Valoración de alimentos tradicionales de la población ecuatoriana".

Elaboración: El autor.

La encuesta (anexo 1) elaborada por docentes de la UTPL fue dirigida a personas que preparan alimentos en hogares de la zona urbana de la ciudad de Loja, con la finalidad de conocer los métodos domésticos aplicados en la preparación de legumbres aplicando primeramente remojo, cantidad de agua, tiempo de reposo y métodos de cocción.

2.2.1. Pruebas preliminares de la cocción de las muestras.

Basándose en las encuestas empleadas se pudo seleccionar los métodos de cocción ideales en las legumbres los cuales fueron: cocción a ebullición y en cocción a presión.

Para ello, los granos previamente se les realizó un proceso de remojo en agua con relación 1:2 p/v, por un tiempo de 5 horas.

Las legumbres fueron sometidas a diferentes cocciones (Tabla 6), hasta obtener un tratamiento óptimo de cocción, con una relación 1:9 p/v para la ebullición y 1:4 p/v para presión, transcurrido el tiempo de cocción se analizó presionando con las yemas de los dedos que el grano este suave y no quede ningún grano duro. Los tiempos de cocción se tomaron en cuenta desde el momento que inició la ebullición del agua (cocción a ebullición) y desde el primer sonido de la válvula de vapor de la olla de presión.

Tabla 6. Tiempos empleados en cocción de legumbres.

		Zarandaja		Firiguero	
Tiempo (min)	Ollas	Presión	Ebullición	Presión	Ebullición
	Pruebas preliminares	16	80	16	80
		18	90	18	90
		20	100	20	100
	Final	25	135	14	110

Fuente: El proyecto

Elaboración: El autor.

Para determinar los tiempos óptimos para las dos cocciones se realizaron diferentes cocciones por cada legumbre los cuales están representados en la tabla 6, y así se obtiene el tiempo óptimo con el que se realizó el análisis, representado como el tiempo final.

2.2.2. Análisis sensorial de la cocción de las muestras.

El análisis sensorial se realizó una ficha para catación (ANEXO 2), se seleccionaron tres muestras con diferentes tiempos de cocción numeradas aleatoriamente (grano suave y grano duro). Se trabajó con ocho catadores quienes clasificaron según su dureza y trazaron una línea en el punto más apropiado de cada escala lineal.

2.3. Preparación de la muestra

2.3.1. Selección de la materia prima.

Los granos fueron seleccionados manualmente para eliminar impurezas y algunos objetos extraños, se empaclaron en bolsas aplicando vacío (para impedir que entre aire y no se contaminen), se almacenó a temperatura ambiente a 21 °C hasta su utilizarlos posteriormente.

2.3.2. Muestra cruda.

Las muestras de zarandaja y firiguero fueron procesadas directamente siguiendo la metodología de Pérez-Jiménez et al., (2008). Se trituró a una velocidad de 1800 rpm con una malla de 0,75 mm, se obtuvo un tamaño de partícula $\leq 500 \mu\text{m}$, se utilizó un molino ultra

centrífugo RETSCH ZM200 (figura 4), posteriormente se almacenaron en bolsas de aluminio (figura 4) con cierre hermético a temperatura ambiente hasta que fueron utilizadas.



Figura 3:A) Molino ultra centrífugo RETSCH B) Bolsas aluminio (zarandaja y firiguero)

Fuente: El autor.

Elaboración: El autor.

2.3.3. Muestras cocidas

2.3.3.1. Diagrama de proceso de cocción.

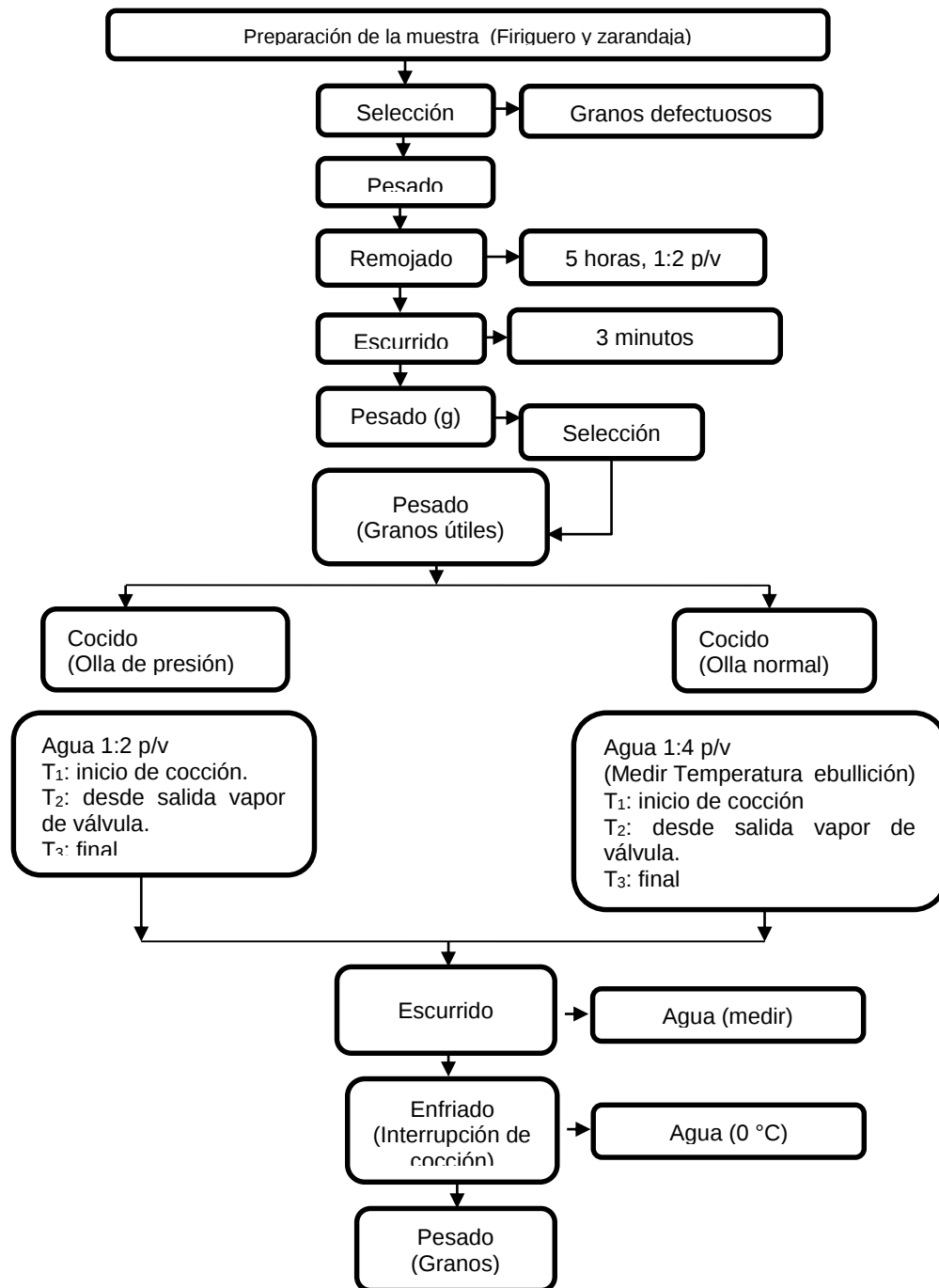


Figura 4: Proceso de cocción de legumbres.

Fuente: El autor.

Elaboración: El autor.

2.3.3.2. Trituración de muestras cocidas

Se realizó trituración de los granos cocidos con la ayuda de un procesador de alimentos marca KITCHEN AID a velocidad baja se trituró las muestras por un tiempo de 30 segundos y las

aguas de cocción se colocaron en frascos boeco y posteriormente fueron congeladas por separado antes de ingresar al equipo para su posterior liofilización.

2.3.3.3. Liofilización.

Las muestras de zarandaja y firiguero cocidos fueron liofilizadas en el equipo LABCONCO freezone 12, temperatura de colector de -51°C , temperatura de cámara de 31°C y presión de vacío de 0,110 mBar. Las muestras liofilizadas fueron almacenadas en refrigeración a 2°C en bolsas de aluminio en oscuridad (Figura 5).



Figura 5: A) Liofilizador equipo LABCONCO 12. B) Bolsas de aluminio con zarandaja y firiguero.

Fuente: El autor.

Elaboración: El autor

2.4. Obtención de extractos de zarandaja y firiguero.

Siguiendo la metodología de Pérez-Jiménez et al., (2008), se pesó 3 gramos de cada muestra (granos y agua de cocción) y se le añadió 20 mL de solución metanol/agua (50:50 v/v, pH2), se colocó las muestras en un agitador magnético a 180 rpm por un tiempo de 1 hora; se centrifugo durante 10 min a 2850 rpm, obteniendo el sobrenadante (A) y sobre el residuo se añadió 20 mL de solución acetona/agua (70:30 v/v) para nuevamente dejar en agitación durante 1 hora a 180 rpm, en un agitador magnético; se centrifugo por 10 min a 3000 rpm (Figura 7), se tomó el sobrenadante (B) para luego unirlo con el sobrenadante (A). Como se muestra en la figura 6.

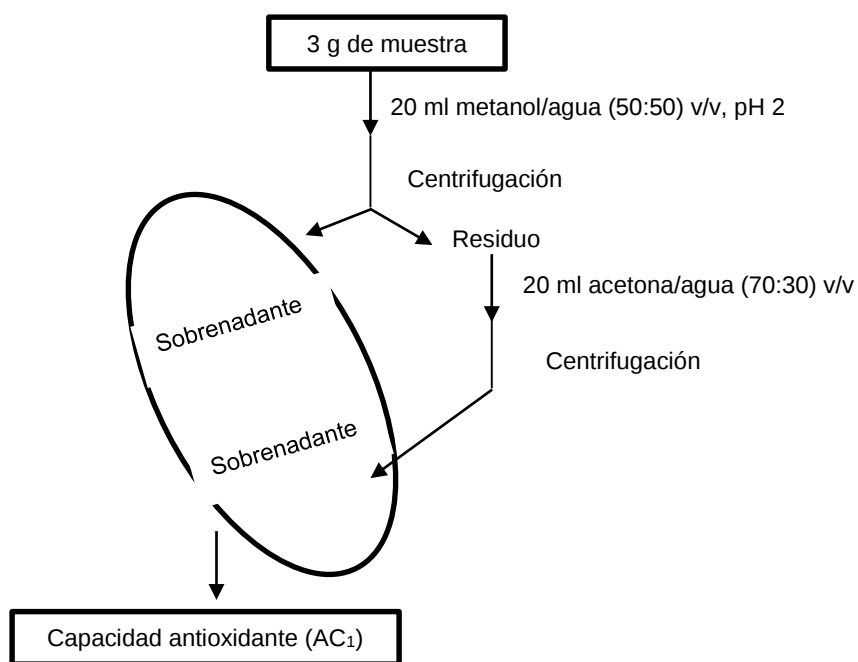


Figura 6: Esquema de la extracción de antioxidantes.

Fuente: Pérez-Jiménez et al., (2008)

Elaboración: El autor.



Figura 7: A) Agitador magnético. B) Centrífuga. C) Muestra de sobrenadante firiguero.

Fuente: El autor.

Elaboración: El autor.

2.5. Determinación de fenoles totales.

Para la determinación de fenoles totales se utilizó el reactivo Folin –Ciocalteau de acuerdo a la metodología descrita por con algunas modificaciones.

2.6. Fenoles totales.

Este ensayo se realizó directamente en los pocillos de la placa de lectura en los cuales se colocó 240 μL de H_2O tanto para los estándares y para las muestras, se adicionó 15 μL de estándares y muestras, en el caso de blanco se colocó 15 μL del disolvente metanol. Se colocó 15 μL de reactivo Folin-Ciocalteu diluido en agua y se dejó reaccionar por un tiempo de 15 min y consecutivamente se añadió 30 μL de carbonato de sodio (20%), se dejó incubar por 2 horas en el lector de microplaca (Bio Tech, EPOCH 2). La lectura se realizó por triplicado a una temperatura de 25 $^{\circ}\text{C}$ y a una longitud de onda de 725 nm (Figura 8).

Condición final de método de fenoles totales:

- La lectura del blanco, estándar y muestra por triplicado.
- Incubación inicial 15 minutos en el equipo, incubación final 2 horas en oscuridad a 20 $^{\circ}\text{C}$
- Longitud de onda de lectura 725nm.

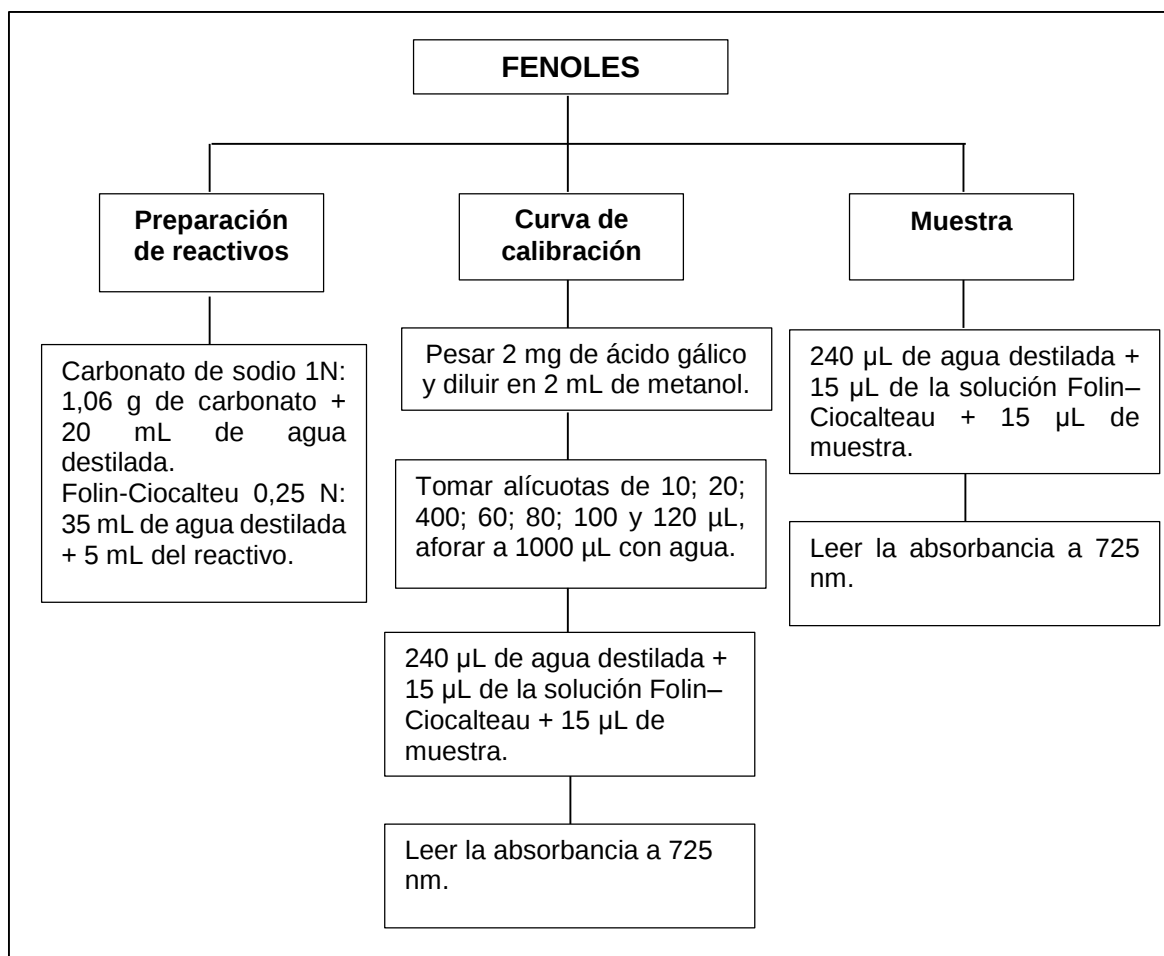


Figura 8. Método de fenoles totales.

Fuente: El autor

Elaboración: El autor.

2.7. Determinación de capacidad antioxidante.

Para la determinación de capacidad antioxidante en estas legumbres se utilizaron los métodos de: DPPH (2,2-difenil-picrilhidracil), FRAP (reducción férrica de un antioxidante y ABTS (2,2'-azino-bis, 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico ácido).

2.7.1. Curva de calibración.

Para realizar la curva de calibración de los métodos que determinan la capacidad antioxidante se preparó una solución madre de Trolox, pesando 2,58 mg de reactivo Trolox y se lo diluyó en 10 mL de MeOH, de esta solución madre se tomaron alícuotas para realizar las diferentes concentraciones con MeOH. Para la curva de calibración se preparó una solución madre de trolox (1000 ppm), pesando 25 mg de trolox y se disolvió en 50 mL de MeOH, de esta solución madre se tomaron alícuotas para realizar las diferentes concentraciones aforando con MeOH y se agitaron en un agitador vortex modelo M37600 TH.

Tabla 7: Preparación de estándares de Trolox.

Estándar	Alícuota solución Madre (μL)	Aforo (MeOH- μL)	Concentración Final μM	Concentración Ensayo μM
1	10	990	10	0,5
2	20	980	20	1
3	40	960	40	2
4	60	940	60	3
5	80	920	80	4
6	100	900	100	5
7	120	880	120	6

Fuente: La experimentación.

Elaboración: El autor.

2.8. Método ABTS.

Se utilizó la metodología descrita por Thaipong et al., (2006) con modificaciones. Para este ensayo, se preparó una solución ABTS (7,4 μM) pesando 40,6 mg de reactivo ABTS y se diluyó en 10 mL de agua destilada, consecutivamente se preparó una solución de peroxodisulfato de potasio (2,6 μM) para la cual se pesó 7,03 mg de peroxodisulfato de potasio y se diluyó en 10 mL de agua destilada, se obtuvo la solución madre mezclando en una relación 1:1 las soluciones de ABTS y la de peroxodisulfato, se dejó reaccionar por 24 horas, de esta solución madre se tomó alícuotas y se mezcló con MeOH hasta alcanzar una absorbancia de $1,2 \pm 0,02$ a una longitud de onda de 734 nm obteniendo la solución de trabajo ABTS (Figura 10).

Los ensayos de ABTS se realizaron en los pocillos en los cuales se mezclaron las soluciones por triplicado, para la preparación del blanco se colocó 30 μL de MeOH + 270 μL de solución de trabajo ABTS, para los estándares se mezcló 30 μL de estándar + 270 μL de solución de trabajo ABTS, las muestras se realizaron colocando 30 μL de muestra + 270 μL de solución de trabajo ABTS, se dejó reaccionar por un tiempo de 1 hora a una temperatura de 25 °C y se realizó la lectura a una longitud de onda de 734 nm en un lector de micro-placa (Bio Tech, EPOCH 2).

Condición final de método ABTS:

- La lectura del blanco, estándar y muestra por triplicado.
- Incubación 1 hora en oscuridad dentro del equipo, a 25°C.
- Longitud de onda de lectura 734 nm.

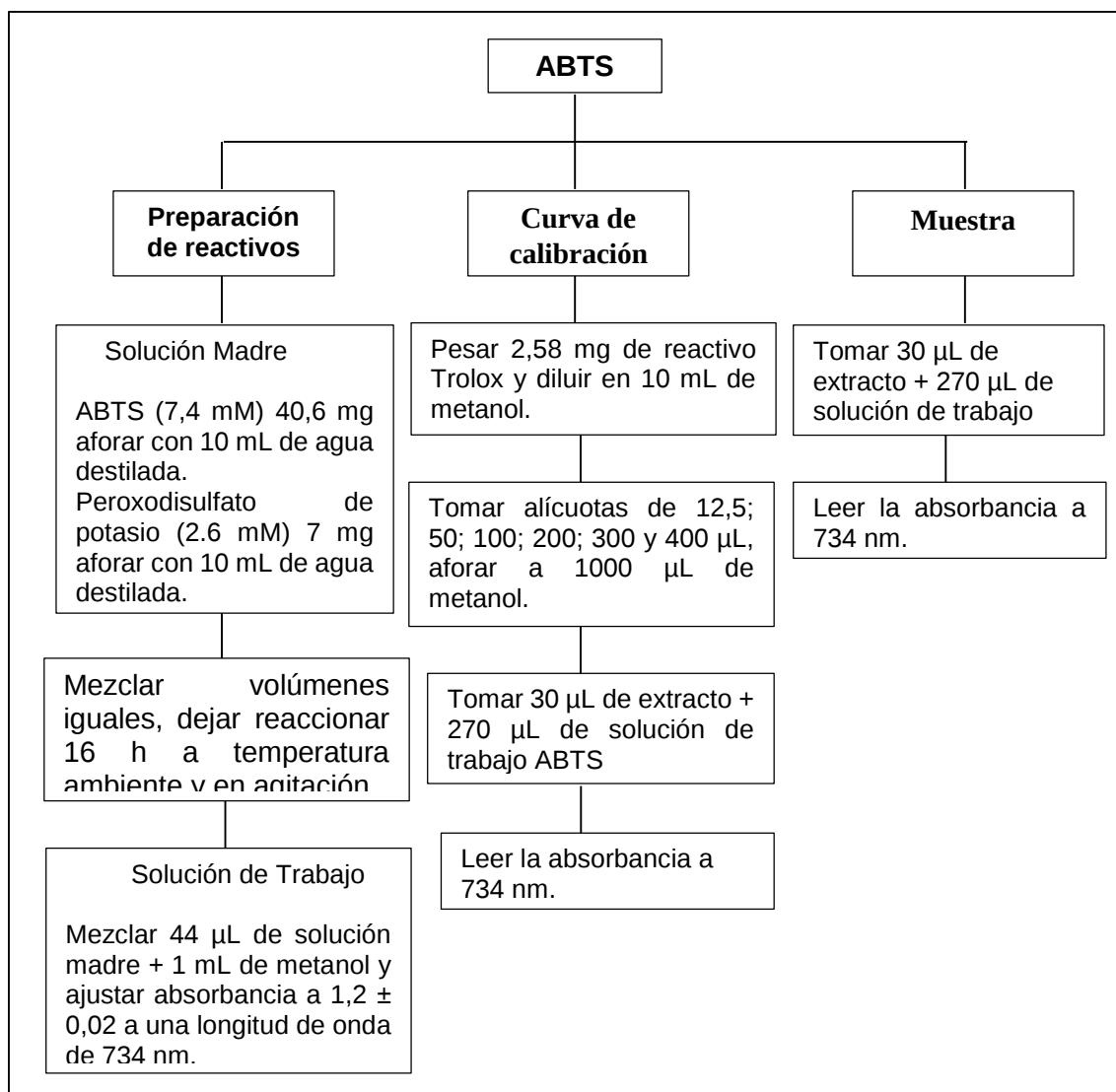


Figura 9. Método ABTS.

Fuente: El autor.

Elaboración: El autor.

Tabla 8: Preparación de estándares

Estándar	Alícuota solución Madre (μL)	Aforo (MeOH- μL)	Concentración Final μM	Concentración Ensayo μM
1	12,5	987,5	25	2,5
2	50	950	50	5
3	100	900	100	10
4	200	800	200	20
5	300	700	300	30
6	400	600	400	40
7	500	500	500	50

Fuente: El autor.

Elaboración: El autor.

2.9. Método FRAP.

Se utilizó la metodología de con modificaciones realizadas por Benzie & Strain, (1996) con modificaciones realizadas por Thaipong et al., (2006).

Para cuantificar el poder de reducción férrica se preparó una solución de trabajo para la cual se preparó previamente una solución (A) Buffer de acetado (pH 3,6) pesando 310 mg de acetato de sodio + 1,6 mL de ácido acético 100% y se aforo a 10 mL con agua destilada, posteriormente se preparó una solución (B) TPTZ (10 mM) pesando 31,2 mg de TPTZ + 10 mL de ácido clorhídrico 40 mM y se agito, consecutivamente se preparó una solución (C) de cloruro férrico (20 mM) se pesó 54 mg de cloruro de hierro (III) + 10 mL de agua destilada, y por ultimo una solución (D) ácido clorhídrico (40 mM) se preparó colocando 22,67 μL de ácido clorhídrico 37% en un balón de aforo de 50 mL y se aforo con agua destilada (Figura 9).

Para preparar la solución de trabajo se mezcló las soluciones A, C y D en proporciones 10:1:1 respectivamente y se incubó a 37 °C durante 15 min.

En los pocillos de la placa se mezcló las soluciones por triplicado, para la preparación del blanco se colocó 30 μL de MeOH + 270 μL de solución de trabajo FRAP, para los estándares se utilizó 30 μL de estándar + 270 μL de solución de trabajo FRAP, las muestras se realizaron colocando 30 μL de la muestra + 270 μL de solución de trabajo FRAP, se dejó reaccionar durante 30 min a una temperatura de 37 °C y se realizó la lectura a una longitud de onda de 593 nm en un lector de microplaca (Bio Tech, EPOCH 2).

Condiciones final del método FRAP.

- La lectura del blanco, estándar y muestra por triplicado.
- Incubación 30 minutos en oscuridad dentro del equipo a 37°C.
- Longitud de onda de lectura 593 nm.

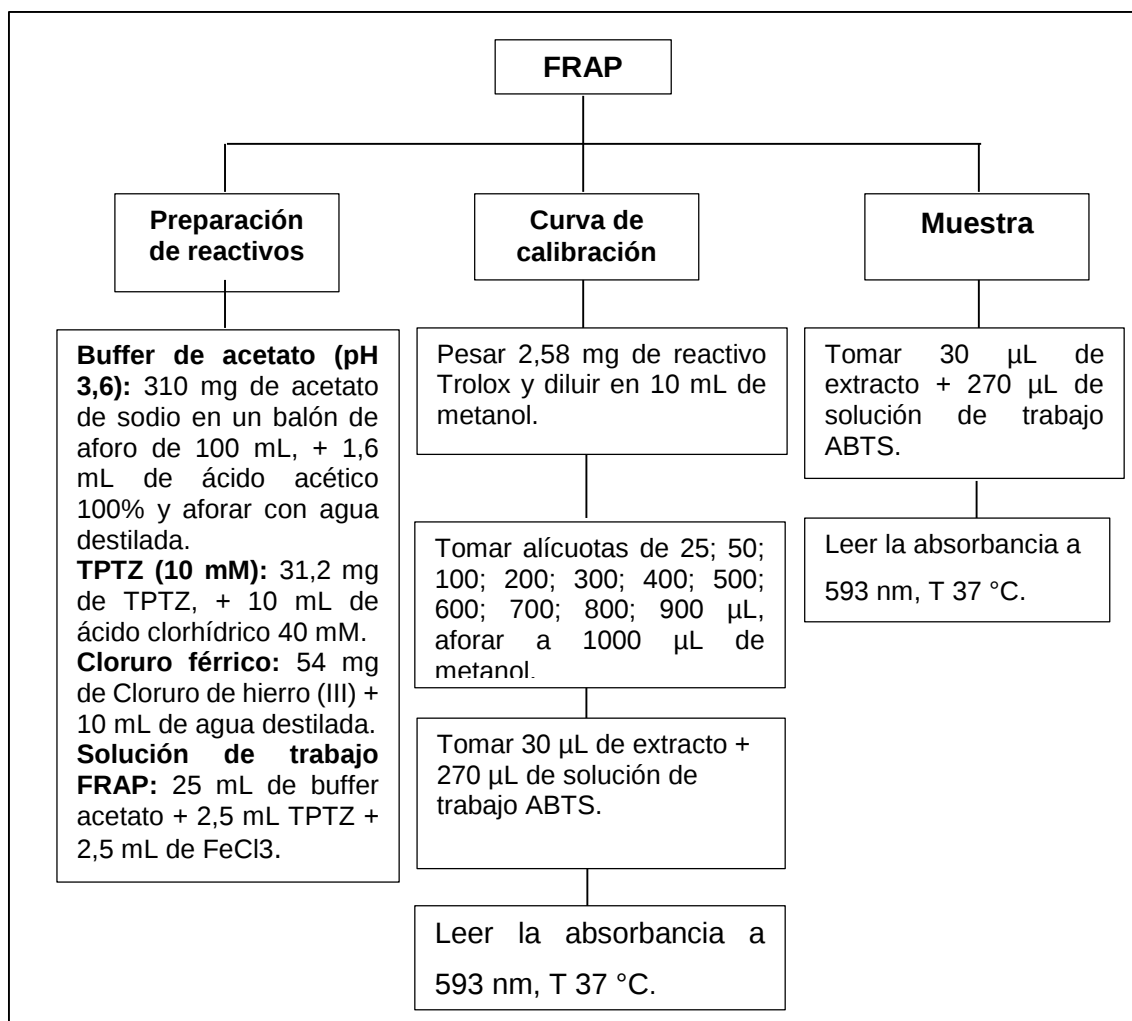


Figura 10. Método FRAP.

Fuente: El autor.

Elaboración: El autor.

2.10. Método DPPH.

Este método se basó en la técnica de Brand-Williams, Cuvelier, & Berset, (1995) con modificaciones realizadas por Thaipong et al., (2006).

Se utilizó un micro método utilizando una placa con 96 micro-placas, fondo plano y la lectura se realizó en el (Bio Tech, EPOCH 2) en diferentes condiciones.

Para realizar el ensayo de DPPH se preparó una solución madre DPPH, pesando 4,92 mg de reactivo DPPH y se lo diluyó en 10 mL de metanol, a partir de esta solución se procedió a preparar la solución de trabajo, tomando una alícuota de 180 µL de solución madre DPPH y se diluyó en un 1 mL de metanol y se ajustó a una absorbancia de $1,1 \pm 0,02$. Si la absorbancia está por debajo del valor indicado, se debe añadir más volumen de la solución madre de DPPH; si por el contrario se encuentra sobre el valor indicado, se debe añadir MeOH hasta alcanzar la absorbancia deseada.

El ensayo se realizó directamente en los pocillos de la placa colocando 30 μL de MeOH + 270 μL de solución de trabajo DPPH para la realización del blanco, para los estándares se utilizó 30 μL de estándar + 270 μL de solución de trabajo DPPH, las muestras se realizaron colocando 30 μL de muestra + 270 μL de solución de trabajo DPPH, y se dejó reaccionar durante 1 hora en el lector de micro placas (Bio Tech, EPOCH 2) a temperatura de 25 °C, esta lectura se realizó a una longitud de onda de 515 nm (Figura 8).

Condición final del ensayo de método DPPH.

- La lectura del blanco, estándar y muestra por triplicado.
- Incubación 1 hora en oscuridad, a 20°C.
- Longitud de onda de lectura 515 nm.

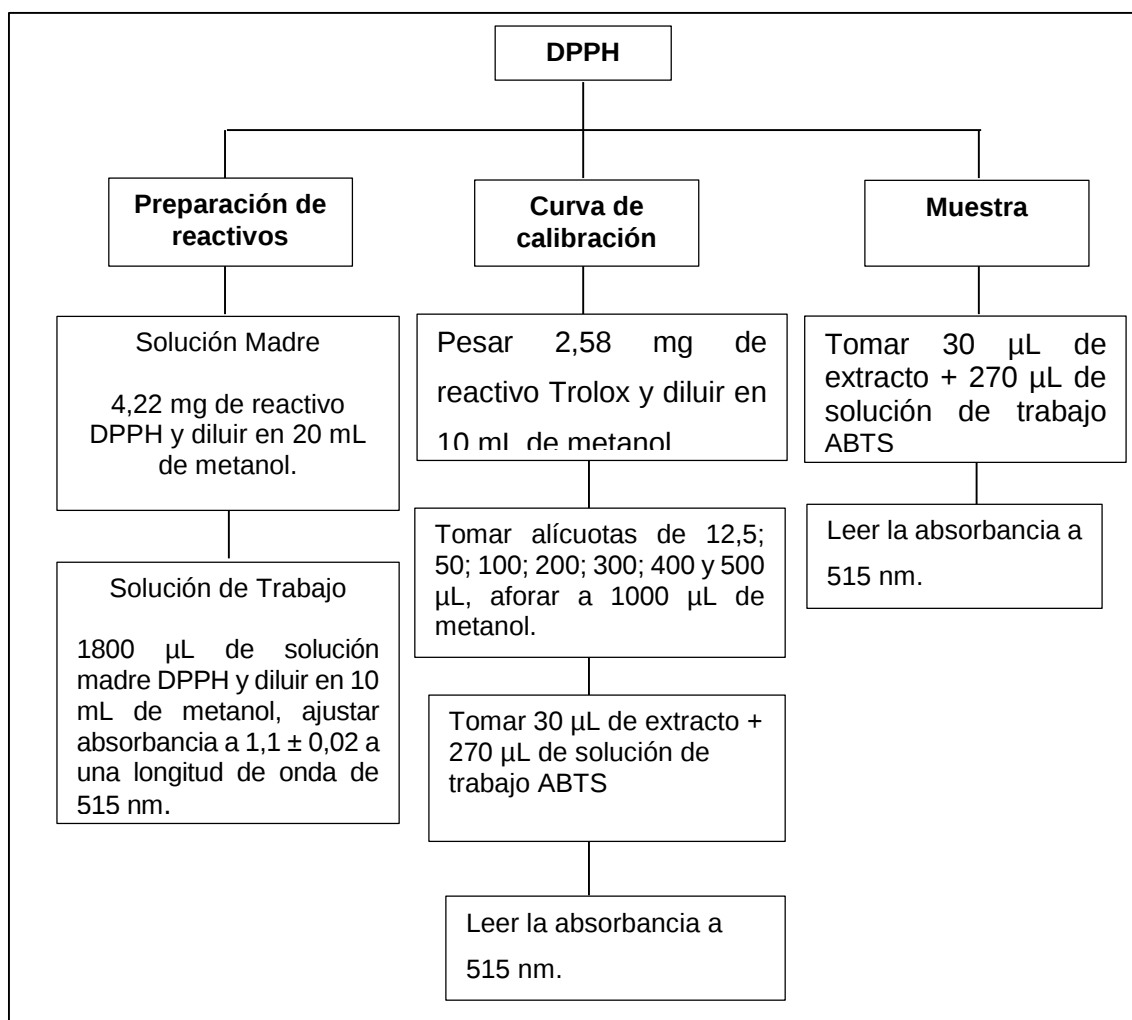


Figura 11. Método DPPH.

Fuente: El autor.

Elaboración: El autor.

2.11. Coeficiente de inhibición IC₅₀.

Para las muestras en donde se obtuvo una mayor capacidad antioxidante se calculó el porcentaje de inhibición del 50% del DPPH, aplicado la metodología de Scherer & Godoy, (2009).

2.11.1. Porcentaje de inhibición del radical DPPH (%I).

Se determinó la absorbancia de la solución de trabajo en tiempo cero y la absorbancia de la muestra al final de la reacción, se aplicó la ecuación como se indica a continuación:

$$\% I = \frac{Abs\ 0 - Abs\ 1}{Abs\ 0} * 100$$

Donde:

Abs 0: Absorbancia de la solución de trabajo en tiempo cero.

Abs 1: Absorbancia de la muestra al final de la reacción.

2.11.2. Valor de IC₅₀.

Se realizó una gráfica, construyendo una curva polinómica, con las concentraciones iniciales de los extractos en el eje de X, y % I en el eje de la Y, de la cual se obtuvo una ecuación polinómica.

$$y = ax^2 + bx + c$$

Se igualó la ecuación, se despejó x para saber la concentración del extracto necesaria para disminuir el 50% de la concentración de DPPH.

2.12. Análisis Estadístico.

Para examinar los resultados entre los métodos de cocción de las legumbres tradicionales, se utilizó el análisis de varianza ANOVA y la prueba de rangos múltiples Tukey con un nivel de significancia de 0,05 empleando el programa MiniTab 16.

3. RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.1. Resultados del firiguero.

3.1.1. Fenoles totales

En la tabla 9 se presentan los datos de fenoles totales, la mayor concentración de fenoles totales se obtuvo en el grano crudo un valor de $759,88 \pm 41,76$ mg EAG/100g, según bibliografía Salas, R.; Ordoñez, E.; Reátegui, (2015) reportaron en el frejol crudo valores entre 33 a 51 mg EAG/100g en uso de solvente metanolico. Otros autores como Aguilera et al., (2013) reportaron en estudio de firiguero un valor de $330 \pm 0,11$ mg EAG/100g utilizando como solvente una solución metanol agua (80:20); se puede apreciar que es un valor inferior al encontrado en el presente estudio. Además Samshuddin, Kamath, Arunkumar, & Avinash, (2015) mediante la utilización del solvente acetona en el firiguero obtuvieron un valor de $65 \pm 0,05$ mg EAG/100g.

Tabla 9: Resultados de fenoles totales en base húmeda.

Solvente	Muestra	Tratamiento	FENOLES TOTALES*
			Co (mg EAG/100 g)
metanol/agua 50:50 y acetona/agua 70:30	Grano	Crudo	$759,88 \pm 41,76^a$
		Ebullición	$423,94 \pm 0,04^b$
		Presión	$437,38 \pm 79,75^b$
	Agua	Ebullición	$3146,24 \pm 288,95^a$
		Presión	$4565,18 \pm 379,20^a$

*Letras diferentes en una misma columna indican que si existe diferencia significativa con un $p < 0,05$.

Fuente: El autor.

Elaboración: El autor

Al analizar los resultados de los granos se puede observar que existe diferencia estadísticamente significativa de fenoles totales entre el grano crudo y los granos cocidos a ebullición y presión, en tanto que no existe diferencia significativa entre los granos cocidos. En el agua de cocción no existe diferencia significativa entre cada método.

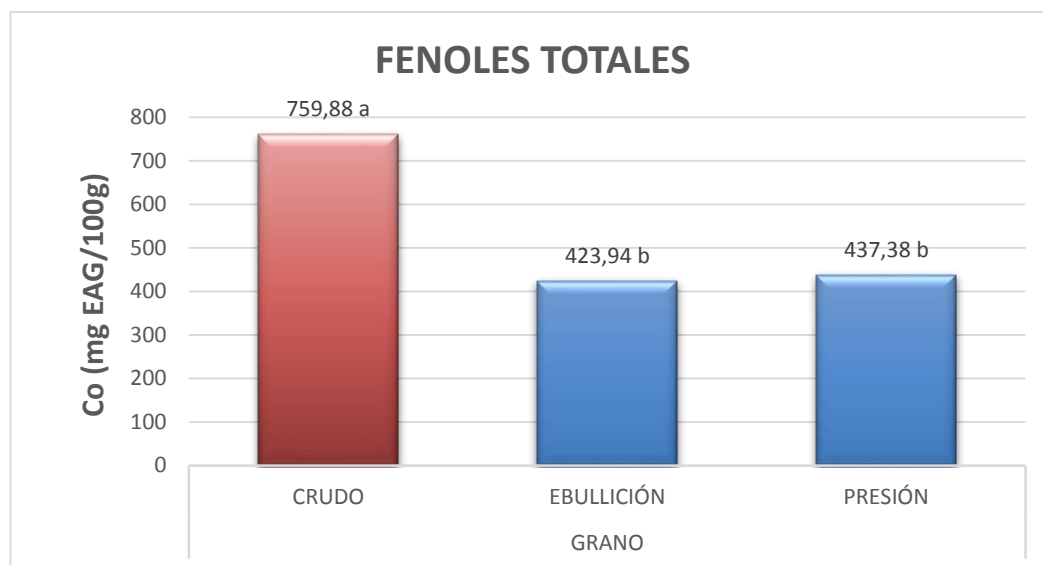


Figura 12. Cuantificación de la capacidad antioxidante de firiguero por el método de Fenoles Totales.

Fuente: El autor.

Elaboración: El autor.

La mayor concentración de fenoles totales encontrado en las muestras analizadas en la presente investigación concuerdan con lo descrito en la metodología de Pérez-Jiménez et al., (2007) en la que indican que la mezcla de solventes utilizados para la extracción hace que la misma sea mayor, con otras investigaciones similares realizadas utilizando un solo solvente en la extracción.

El contenido fenólico, así como contenido de taninos condensados varía dependiendo de varios factores tales como el diferente genotipo, condiciones de crecimiento, las prácticas agronómicas empleadas, estación, la madurez, el almacenamiento posterior a la cosecha y las condiciones de procesamiento disolvente utilizado para la extracción (Zia-UI-Haq et al., 2013).

Con el objetivo de realizar un análisis más completo respecto al efecto de los métodos de cocción sobre el contenido fenólico del firiguero, se realizó el análisis de las aguas de cocción, las mismas que se obtuvieron bajo condiciones indicadas anteriormente, en estas condiciones se obtuvo un mayor valor de contenido fenólico respecto a los granos cocidos, lo cual podría sugerir una pérdida de fenoles totales en el grano cocido, estando acorde a lo mencionado por Cavalcante, R et al., (2017) quien indica un aumento fenólico en los caldos de cocción debido a la solubilización y extracción de estos compuestos, que resultan de la ruptura de paredes celulares y la interrupción de la estructura de los compuestos fenólicos.

Se realizó el cálculo del porcentaje de reducción de fenoles totales con respecto al grano crudo, en el cual se obtuvo un porcentaje de reducción en los granos cocidos con un valor entre 42,44 % y 44,21%.

3.1.2. Resultados de capacidad antioxidante de firiguero.

Se utilizaron tres diferentes metodologías (ABTS, FRAP y DPPH) para evaluar el efecto de los métodos domésticos de cocción sobre el contenido de antioxidante del firiguero y del agua resultante de este proceso. En la Tabla 10 se muestran los resultados obtenidos del grano crudo, granos cocidos por los métodos de ebullición y presión, así como para sus respectivas aguas de cocción.

Tabla 10: Resultados de ABTS, FRAP y DPPH en base húmeda.

Solvente	Muestra	Tratamiento	ABTS*	FRAP*	DPPH*
			Co ($\mu\text{mol ET/g}$)	Co ($\mu\text{mol ET/g}$)	Co ($\mu\text{mol ET/g}$)
metanol/agua 50:50 y acetona/agua 70:30	Grano	Crudo	0,52 $\pm$ 0,00 ^a	0,78 $\pm$ 0,00 ^a	0,52 $\pm$ 0,01 ^a
		Ebullición	0,40 $\pm$ 0,01 ^c	0,29 $\pm$ 0,01 ^c	0,28 $\pm$ 0,02 ^c
		Presión	0,43 $\pm$ 0,00 ^b	0,47 $\pm$ 0,02 ^b	0,38 $\pm$ 0,02 ^b
	Agua	Ebullición	2,15 $\pm$ 0,02 ^a	4,45 $\pm$ 0,03 ^a	1,07 $\pm$ 0,02 ^a
		Presión	1,08 $\pm$ 0,01 ^b	2,99 $\pm$ 0,02 ^b	1,08 $\pm$ 0,02 ^a

*Letras diferentes en una misma columna indican que si existe diferencia significativa con un $p < 0,05$.

Fuente: El autor.

Elaboración: El autor.

Se puede observar la influencia que tienen los métodos de cocción en cada una de las fracciones analizadas. Se observa que en el grano existen diferencias significativas entre el grano crudo y cocido y entre métodos de cocción, utilizando los métodos (ABTS, FRAP y DPPH).

El mejor resultado obtenido de capacidad antioxidante fue en la muestra cruda por los tres métodos (ABTS, FRAP y DPPH); al mismo tiempo se analizó el agua de cocción por ebullición y presión, encontrándose una capacidad antioxidante mayor con respecto al grano crudo, destacándose el agua de cocción por presión como la de mayor valor.

Para el método ABTS, analizando los tres tratamientos, el grano crudo presentó el valor más alto con un valor de $0,52 \pm 0,00 \mu\text{mol ET/g}$ (Figura 13). Autores como Marathe et al., (2011) reportaron un valor de $9,344 \pm 0,217 \mu\text{mol ET/g}$ utilizando 80% de metanol acuoso para firiguero crudo, mientras que Zaquinaula, (2016) en su estudio obtuvo valores de $25,52 \pm 1,93 \mu\text{mol ET/g}$ utilizando (50:50) v/v metanol-agua y (70:30) v/v acetona-agua.

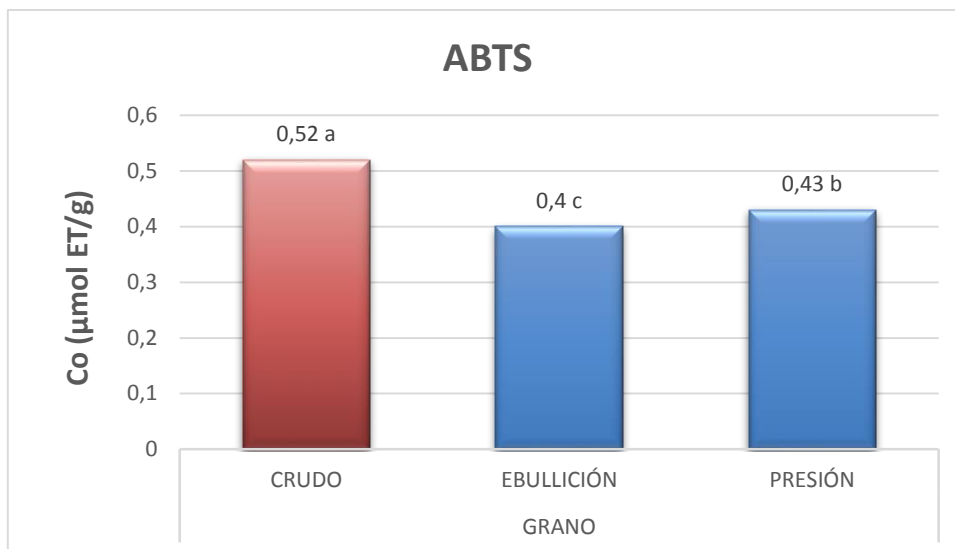


Figura 13. Cuantificación de la capacidad antioxidante de firiguero por el método ABTS.

Fuente: El autor.

Elaboración: El autor.

Para FRAP el mayor valor obtenido fue de $0,78 \pm 0,00$ $\mu\text{mol ET/g}$ encontrado en la muestra de grano crudo (Figura 14). Este valor es inferior si se compara con $19,4 \pm 0,2$ $\mu\text{mol ET/g}$ al obtenido por Zia-Ul-Haq, Ahmad, Amarowicz, & De Feo, (2013) en su estudio realizado en muestras de grano crudo utilizando solvente metanolico. Si comparamos con el estudio realizado por Xu, B.; Chang, (2007) que utilizando como solvente acetona reporta valores de $1,13 \pm 0,2$ $\mu\text{mol ET/g}$ en frijol negro, los valores obtenidos en la presente investigación son similares.

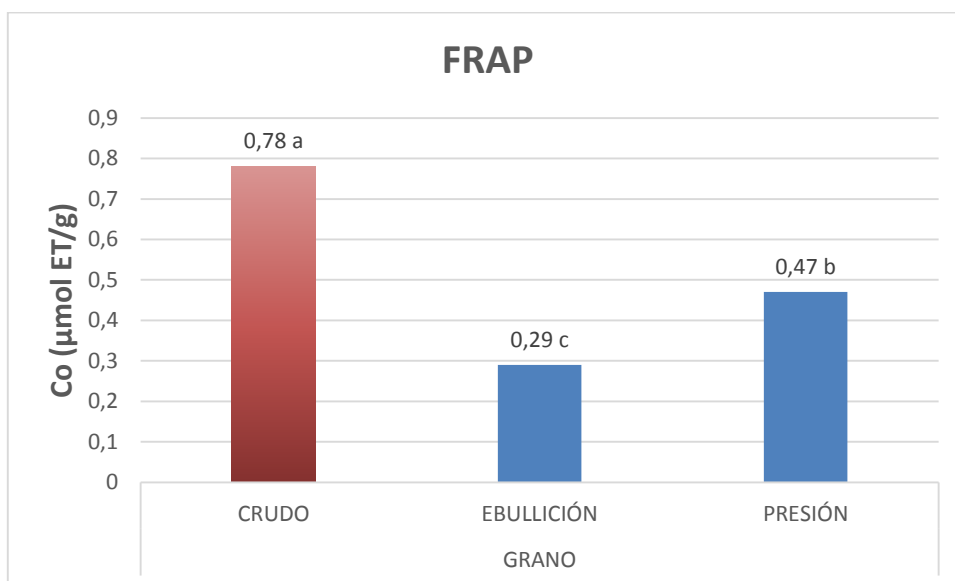


Figura 14. Cuantificación de la capacidad antioxidante de firiguero por el método FRAP.

Fuente: El autor.

Elaboración: El autor.

Para DPPH el resultado obtenido fue de $0,52 \pm 0,01 \mu\text{mol ET/g}$ en grano crudo (Figura 15). Estudios similares realizados por Aguilera et al., (2013) reportan valores de $8,7 \mu\text{mol ET/g}$ en su estudio para firiguero y Zia-Ul-Haq et al., (2013) reportó resultados de $32,5 \pm 0,2 \mu\text{mol ET/g}$; estos autores para su estudio usaron solventes metanolicos.

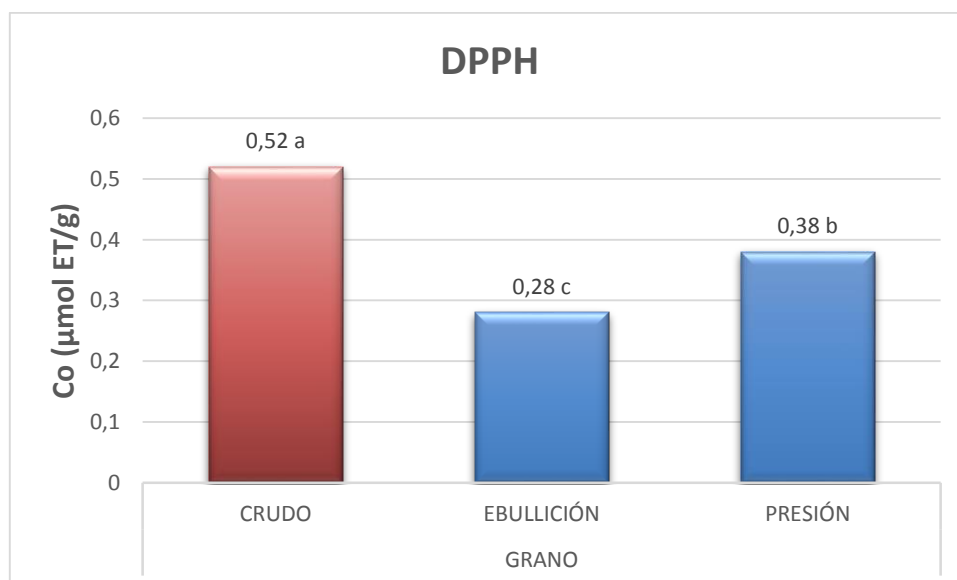


Figura 15: Cuantificación de la capacidad antioxidante de firiguero por el método DPPH.

Fuente: El autor.

Elaboración: El autor.

Al realizar el análisis de los métodos ABTS, DPPH y FRAP se consolidó que al someter ésta legumbre a un tratamiento térmico a presión y en un corto tiempo de cocción, se obtiene una menor pérdida de capacidad antioxidante en el grano, estando acorde a lo mencionado por el autor (Barroga, C. F., Laurena, A. C., & Mendoza, E. M. T., 1985) quien determinó que existe una mayor capacidad antioxidante en los granos tratados térmicamente a presión.

La diferencia entre los valores reportados por otros autores y el obtenido en el presente estudio puede atribuirse a las condiciones de extracción con mezclas de solventes en diferentes proporciones, (Pérez-Jiménez et al., 2007). Sin embargo, el uso de la mezcla de solventes no garantiza que se obtenga una mayor cantidad de antioxidantes, debido que también es necesario considerar condiciones para la extracción como, tamaño de partícula según lo descrito por Figueroa, G; Armijos, A; Pérez, E; (2012) “en el rango comprendido entre >500 y $<1000 \mu\text{m}$ se logra una mayor extracción”; tiempo y temperatura de extracción como menciona en su estudio Samaniego, F; (2016) que determinó las condiciones óptimas de extracción para las distintas metodologías: “ABTS (t: 30min y T: 20°C), FRAP (t: 30min y T: 46°C) y DPPH (t: 30min y T: 36°C)”.

Se realizó el cálculo del porcentaje de reducción de la capacidad antioxidante con respecto al grano crudo, en el cual se obtuvo el porcentaje de reducción con menor valor en el grano cocido por el método de presión obteniendo 16,73 %, 39,27 %, y 25,59 %, para los métodos de ABTS, FRAP y DPPH respectivamente, es decir que el método de cocción que conserva mejor esta característica funcional es el método de cocción a presión.

3.1.3. Resultados de coeficiente de inhibición IC₅₀ del firiguero.

El IC₅₀ obtenido en la muestra de grano crudo tuvo un valor de 63,25 ± 2,07 g muestra/g DPPH y en la muestra agua de cocción a presión se obtuvo un valor de 9,86 g muestra/g DPPH, lo que significa que el agua de presión con menor concentración de antioxidante disminuye la cantidad de DPPH al 50% y el agua de cocción y el grano crudo necesitan una mayor concentración de antioxidante para producir el mismo efecto, es decir que tiene una mejor capacidad antioxidante como se muestra en la figura 16.

Tabla 11. Coeficiente de inhibición IC₅₀.

Solvente	Muestra	Tratamiento	IC ₅₀
			(g muestra/g DPPH)
metanol/agua 50:50 y acetona/agua 70:30	Agua	Ebullición	22,46 ± 2,30 ^a
		Presión	9,86 ± 1,03 ^b
	Grano	Crudo	63,25 ± 2,07 ^a

*Letras diferentes en una misma columna indican que si existe diferencia significativa con un p<0,05.

Fuente: El autor.

Elaboración: El autor.

En estudios realizados por (Heimler, D., Vignolini, P., Dini, M.G., Romani, 2005), en frijoles encontraron valores de IC₅₀ de 0,039 – 0,281 g/g de DPPH, los mismos que al ser comparados con los resultados obtenidos en la presente investigación son inferiores. Según Kong et al., (2009) reportaron en extracto etanólico, un IC₅₀ de 0,2259 mg/mL en frejol de palo. Otro estudio Oomah, B.O., Corb, A.L., Balasubramanians, (2010) utilizando extracto obtenido con acetona al 70% en cáscara de frijol negro, reportaron un IC₅₀ 38 µg/mL, un estudio realizado por coeficiente de inhibición fluctuó entre IC₅₀ 0,26 a 15,26 mg/mL en frejol crudo (Salas, R.; Ordoñez, E.; Reátegui, 2015).

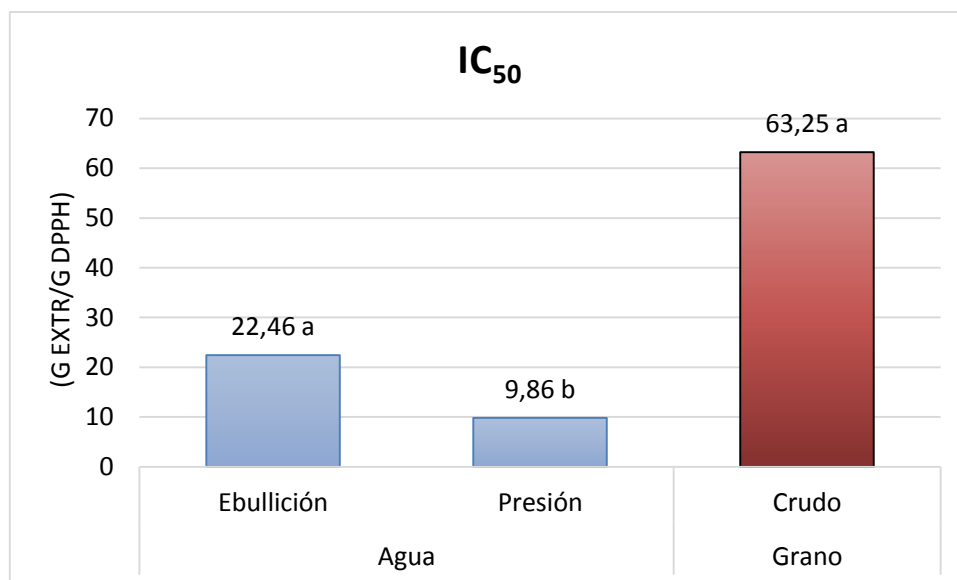


Figura 16. Cuantificación de la capacidad antioxidante de firguero por el método IC₅₀.

Fuente: El autor.

Elaboración: El autor

3.2. Resultados de zarandaja.

3.2.1. Fenoles Totales

En la Tabla 12 se presentan los datos de fenoles totales, evidenciando la mayor concentración de fenoles totales en el grano crudo obteniendo un valor de $1131,48 \pm 0,03$ mg EAG/100. Según la investigación realizada por Aguilera et al., (2013) reportaron un valor de $170 \pm 0,03$ mg EAG/100g utilizando metanol como solvente. Así mismo Cevallos Caillagua, (2015) reporto un valor de $369,26 \pm 5,26$ mg EAG/100g utilizando como solvente de extracción agua.

Tabla 12: Resultados de capacidad de antioxidante de fenoles de zarandaja en base húmeda.

Solvente	Muestra	Tratamiento	FENOLES TOTALES*
			Co (mg EAG/100 g)
metanol/agua 50:50 y acetona/agua 70:30	Grano	Crudo	$1131,48 \pm 0,03^a$
		Ebullición	$1083,07 \pm 22,7^a$
		Presión	$1099,45 \pm 22,70^a$
	Agua	Ebullición	$3584,99 \pm 0,08^a$
		Presión	$3424,32 \pm 0,16^b$

*Letras diferentes en una misma columna indican que si existe diferencia significativa con un $p < 0,05$.

Fuente: El autor.

Elaboración: El autor.

Se observa que en el grano no existen diferencias significativas entre el grano crudo y cocido, en tanto que en el agua de cocción si existe diferencias significativa entre cada método.

Otros ejemplos de legumbres que también ha sido analizados bajo este método Tenemos: garbanzo $149,37 \pm 10,35$ mg EAG/100g; frijol silvestre $332,98 \pm 8,06$ mg EAG/100g; guisante

126,63 $\pm$ 35 mg EAG/100g; frijol mungo 418,34 $\pm$ 12,57 mg EAG/100g; frijol palo 229,33 $\pm$ 3,34 mg EAG/100g; lenteja 112,91 $\pm$ 3,19 mg EAG/100g; soja 100,54 $\pm$ 1,08 mg EAG/100g (Sreeramulu et al., 2009).

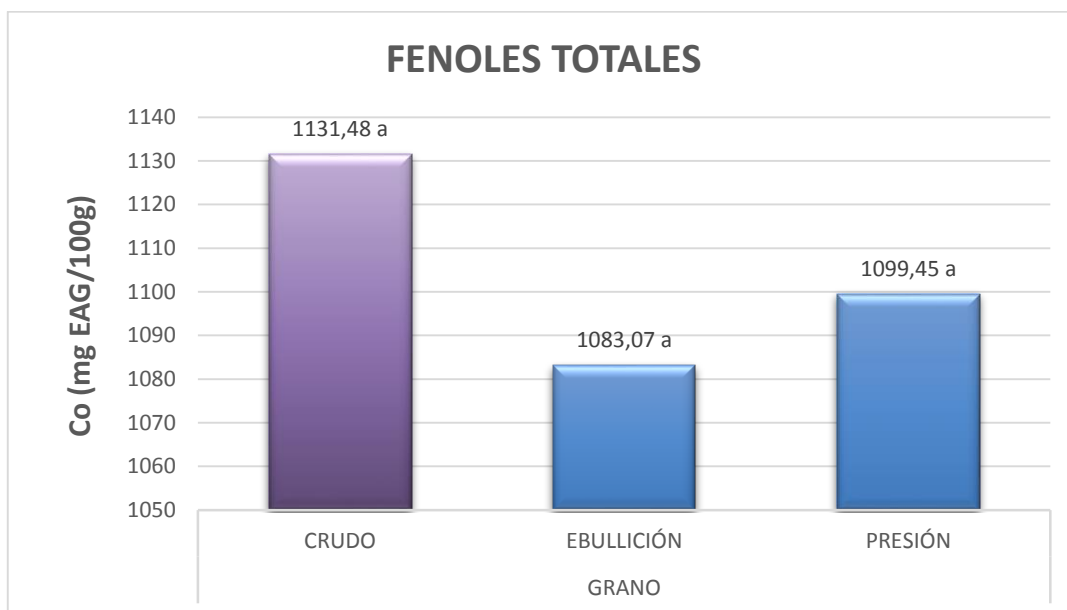


Tabla 13. Cuantificación de la actividad antioxidante de zarandaja por el método Fenoles Totales.
Fuente: El autor.
Elaboración: El autor.

Por otra parte, la elección de los solventes adecuadas pueden facilitar la extracción de compuestos fenólicos, (Pérez-Jiménez et al., 2007) el uso de los solventes de diferente polaridad pueden ayudar a una mejor extracción. Además las diferencias encontradas en los resultados de esta investigación con los obtenidos en estudios previos pueden ser provocadas por diferentes factores tales como: diferente genotipo, condiciones de crecimiento, las prácticas agronómicas empleadas, estación, la madurez, el almacenamiento posterior a la cosecha y las condiciones de procesamiento disolvente utilizado para la extracción (Zia-UI-Haq et al., 2013).

Al analizar el agua de cocción por ebullición y presión, se encontró una capacidad antioxidante mayor con respecto al grano crudo, destacándose el agua de cocción por presión como la de mayor valor.

Por último, la zarandaja se categoriza como una legumbre de alto contenido fenólico según los rangos propuestos por Marathe et al., (2011), en el indica que esta categoría oscila desde 2,0 mg EAG/g o más.

Se realizó el cálculo del porcentaje de reducción de fenoles totales con respecto al grano crudo, en el cual se obtuvo el porcentaje de reducción con menor valor en el grano cocido por

el método de presión obteniendo 2,83 %, es decir que el método de cocción que conserva mejor esta característica funcional es el método de cocción a presión.

3.2.2. Resultados capacidad antioxidante.

Se evaluó la capacidad antioxidante mediante los métodos (ABTS, DPPH, FRAP) en los granos de zarandaja crudos y luego de ser sometido a los métodos de cocción descritos anteriormente. Los resultados están expuestos en la Tabla 16 se muestran los resultados obtenidos del grano crudo, granos cocidos por los métodos de ebullición y presión, así como para sus respectivas aguas de cocción.

Tabla 13. Resultados de ABTS, FRAP Y DPPH de zarandaja en base húmeda.

Solvente	Muestra	Tratamiento	ABTS*	FRAP*	DPPH*
			Co ($\mu\text{mol ET/g}$)	Co ($\mu\text{mol ET/g}$)	Co ($\mu\text{mol ET/g}$)
metanol/agua 50:50 y acetona/agua 70:30	Grano	Crudo	$0,35 \pm 0,02^a$	$0,25 \pm 0,01^a$	$0,15 \pm 0,02^a$
		Ebullición	$0,24 \pm 0,01^b$	$0,13 \pm 0,00^c$	$0,09 \pm 0,00^a$
		Presión	$0,32 \pm 0,02^a$	$0,18 \pm 0,00^b$	$0,11 \pm 0,02^a$
	Agua	Ebullición	$0,86 \pm 0,00^a$	$0,58 \pm 0,00^b$	$0,78 \pm 0,00^b$
		Presión	$0,78 \pm 0,00^b$	$0,85 \pm 0,00^a$	$1,22 \pm 0,00^a$

*Letras diferentes en una misma columna indican que si existe diferencia significativa con un $p < 0,05$.

Fuente: El autor.

Elaboración: El autor.

Se puede observar la influencia que tienen los métodos de cocción en cada una de las fracciones analizadas (grano y agua de cocción). En el grano existen diferencias significativas entre el grano crudo y cocido y entre métodos de cocción en dos métodos (ABTS, FRAP), en tanto que en DPPH no existe diferencias significativa entre ellos. Además se puede apreciar (Figura 18) que para el método ABTS se obtuvo un mejor resultado en el grano crudo con un valor de $0,35 \pm 0,02 \mu\text{mol ET/g}$. Investigaciones similares realizadas por Marathe et al., (2011) reportaron valores en zarandaja de 6 - 12 $\mu\text{mol ET/g}$, en esta investigación utilizaron metanol al 80%; además Zaquinaula, (2016) reporta valores de $9,57 \pm 0,13 \mu\text{mol ET/g}$ y $8,82 \pm 0,03 \mu\text{mol ET/g}$ en base húmeda en zarandaja.

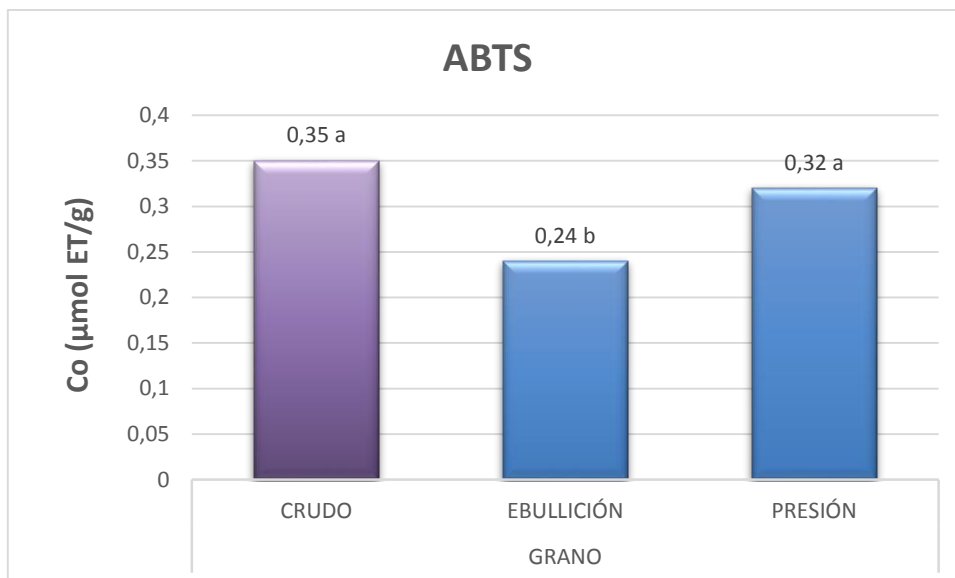


Figura 17. Cuantificación de la actividad antioxidante de zarandaja por el método ABTS.

Fuente: El autor.

Elaboración: El autor.

Para el método FRAP, el grano crudo obtuvo un valor de $0,25 \pm 0,01$ μmol ET/g, tal como se muestra en la Figura 19. En estudios similares los resultados obtenidos son superiores a los encontrados en esta investigación, autores como Marathe et al., (2011) reportaron para la zarandaja un valor de $4,333 \pm 0,098$ μmol ET/g, mientras que, Aguilera et al., (2013) reporta un valor de 1,8 μmol ET/g. Sin embargo (Xu, B; Yuan, S & Chang, S; 2007) reportó un valor de 0,0583 μmol ET/g utilizando 50/50 acetona/agua v/v.

Además en otros estudios de diferentes legumbres realizadas por Sreeramulu, Reddy, & Raghunath, (2009) reportaron en algunas legumbres como: soja $130,57 \pm 6,50$ μmol ET/g; lenteja $67,98 \pm 7,09$ μmol ET/g; frijol de palo $102,65 \pm 12,51$ μmol ET/g; frijol silvestre $372,76 \pm 17,72$ μmol ET/g; guisante $97,35 \pm 7,44$ μmol ET/g y frijol mungo o poroto chino $61,75 \pm 9,89$ μmol ET/g, siendo estos resultados superiores a los obtenidos en la muestra analizada.

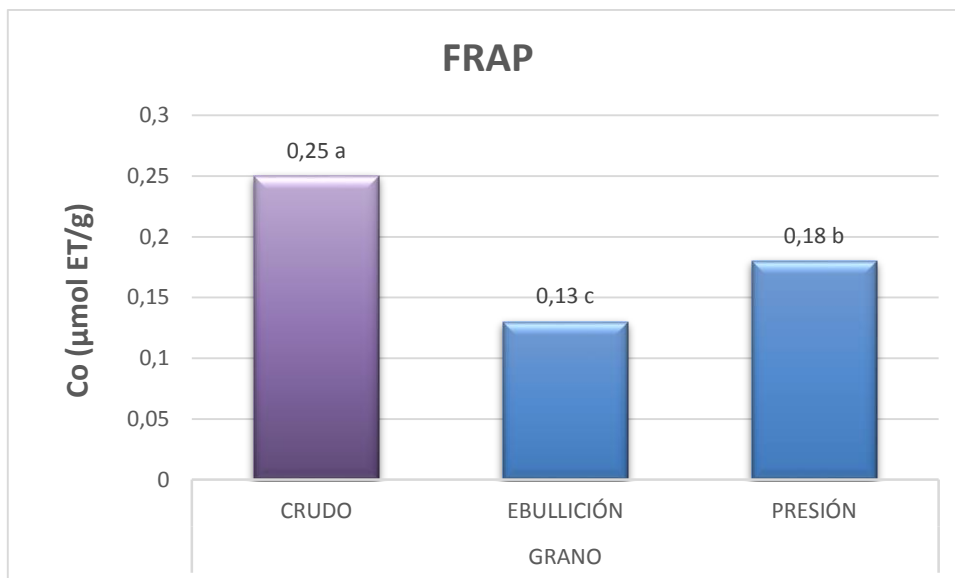


Figura 18. Cuantificación de la actividad antioxidante de zarandaja por el método FRAP.

Fuente: El autor.

Elaboración: El autor.

En la figura 20 se muestran los resultados para el método DPPH evidenciándose la mayor concentración de capacidad antioxidante en la muestra de agua de cocción por olla a presión obteniendo un valor de $1,22 \pm 0,00 \mu\text{mol ET/g}$. Cevallos (2015) reportó un resultado de $41,58 \pm 1,18 \mu\text{mol ET/g}$ en grano de zarandaja utilizando etanol al 80%. Por otra parte (Xu, B; et al., 2007) reportó un valor de $14,13 \mu\text{mol ET/g}$ utilizando 50/50 acetona/agua v/v.

Además Sreeramulu et al., (2009) reportaron que algunas legumbres de distintas especies varían la concentración de acuerdo a la especie reportando valores para: frijol mungo o poroto chino $0,27 \pm 0,07 \mu\text{mol ET/g}$; soja $0,97 \pm 0,02 \mu\text{mol ET/g}$; lenteja $0,44 \pm 0,13 \mu\text{mol ET/g}$; frijol de palo $0,61 \pm 0,18 \mu\text{mol ET/g}$; frijol silvestre $1,07 \pm 0,21 \mu\text{mol ET/g}$ y guisante $0,88 \pm 0,05 \mu\text{mol ET/g}$; los resultados obtenidos por este autor son aproximados a los obtenidos en el presente estudio.

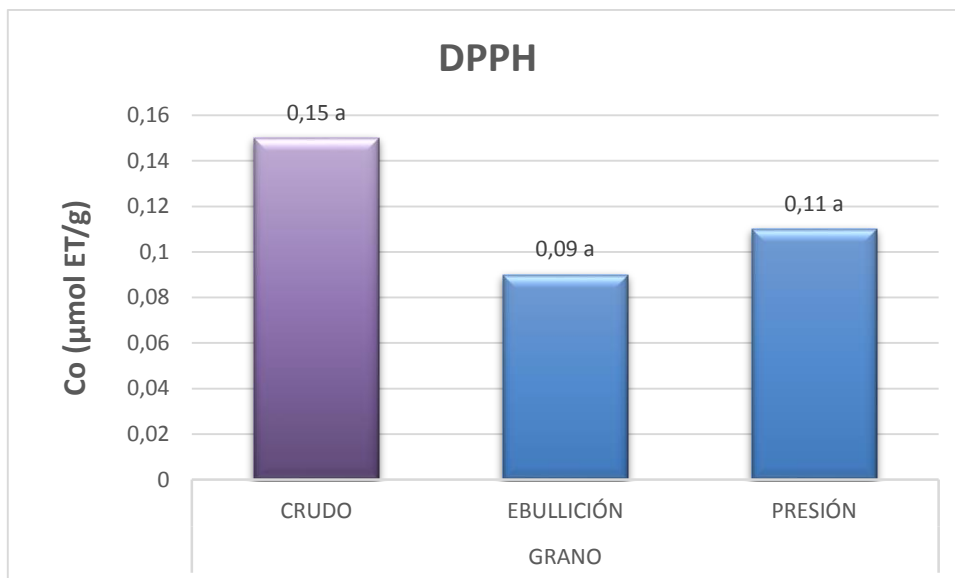


Figura 19. Cuantificación de la actividad antioxidante de zarandaja por el método DPPH.

Fuente: El autor.

Elaboración: El autor.

La capacidad antioxidante en zarandaja al utilizar los tres métodos (ABTS, FRAP y DPPH) es bajo, en contraposición con el agua de cocción en donde se encontró la mayor capacidad antioxidante en el agua de cocción tanto en ebullición y presión, esto explica porque en el grano la actividad antioxidante es baja.

El método de cocción con el que se logró la mayor concentración de capacidad antioxidante fue en el método de presión utilizado altas temperaturas a menor tiempo, lo que provoca que la actividad antioxidante sea menos afectada, esto puede deberse a que los alimentos soportan mejor los tratamiento térmicos cortos a temperaturas elevadas (Zavala, R & Sesibet, M; 2013)

Se realizó el cálculo del porcentaje de reducción de la capacidad antioxidante con respecto al grano crudo, en el cual se obtuvo el porcentaje de reducción con menor valor en el grano cocido por el método de presión obteniendo 7,70 %, 26,07 %, y 21,13 %, para los métodos de ABTS, FRAP y DPPH respectivamente, es decir que el método de cocción que conserva mejor esta característica funcional es el método de cocción a presión.

3.3. Resultados de coeficiente de inhibición IC_{50} de zarandaja.

En la tabla 14 se puede observar en la muestra en el método de cocción por olla de ebullición se obtuvo un IC_{50} $30,49 \pm 1,48$ g/g. Quintanilla, (2016) reportó en cáscara de frijol caucha un IC_{50} de 0,032 mg/mL y en frijol de palo de $6,28 \pm 0,10$ mg/mL.

Figura 20: Resultados de coeficiente de inhibición IC₅₀ zarandaja.

Solvente	Muestra	Tratamiento	IC ₅₀ *
			(g extr/g DPPH)
metanol/agua 50:50 y acetona/agua 70:30	Agua	Ebullición	30,49 ± 1,48 ^a
		Presión	27,03 ± 1,45 ^a

*Letras diferentes en una misma columna indican que si existe diferencia significativa con un p<0,05.

Fuente: El autor.

Elaboración: El autor.



Figura 21: Cuantificación de la actividad antioxidante de zarandaja por el método IC₅₀.

Fuente: El autor.

Elaboración: El autor.

El mejor tratamiento en los métodos de ABTS, FRAP y DPPH y contenido fenólico fue en aguas de cocción en ollas de presión y ollas normal ya que se obtuvo mayor cantidad de capacidad antioxidante tanto en firiguero y zarandaja.

CONCLUSIONES

- Se determinó que existe una mayor capacidad antioxidante y contenido fenólico en las muestras de zarandaja y firiguero crudo que al ser sometidas a los dos métodos de cocción. Además se evidenció que las muestras de zarandaja obtuvieron una mayor concentración de fenoles totales que las muestras de firiguero; en cambio las muestras de firiguero contienen una mayor capacidad antioxidante que las muestras de zarandaja.
- Respecto a la capacidad antioxidante y al contenido de fenoles totales, se encontró que el método de cocción por olla a presión presentó mayor concentración tanto en los granos de firiguero y zarandaja.
- Se evaluó el agua de cocción de los tratamientos de ebullición y presión, encontrándose un mayor contenido fenólico en las muestras de firiguero tratadas con el método de presión y en el caso de zarandaja se determinó un mayor contenido fenólico en el agua de cocción por el método de ebullición. La capacidad antioxidante en el agua de cocción por ebullición del firiguero obtuvo la mayor concentración, a diferencia de la zarandaja que su mayor concentración fue encontrada en el método a presión.
- Se encontró que el agua de cocción por el método a presión tanto en firiguero como zarandaja tuvo una mejor capacidad antioxidante, con menor concentración de antioxidantes inhiben el 50% de DPPH.

RECOMENDACIONES

- Con el objetivo de evaluar el porcentaje de pérdida en capacidad antioxidante durante el tratamiento de remojo previo al tratamiento de cocción sería conveniente realizar un análisis en el agua de remojo dado que algunos compuestos son hidrosolubles y podrían perderse en este proceso.
- Se conoce que los compuestos antioxidantes y fenoles totales varían acorde a las condiciones previas a su cuantificación tanto en temperatura y tiempo, por lo que se recomendaría realizar el análisis siguiendo un solo proceso establecido para evitar cambios en las concentraciones finales.

BIBLIOGRAFÍA

- Adewusi, S. R. A., & Falade, O. S. (1996). The effects of cooking on extractable tannin, phytate, sugars and mineral solubility in some improved Nigerian legume seeds/Efectos de la cocción sobre los taninos, fitato, azúcares y solubilidad mineral de algunas legumbres nigerianas. *Food science and technology international*, 2(4), 231-239.
- Aguilera, Y.; Jime, T.; Ben, V.; Herrera, T.; Cuadrado, C.; Mart, M.; Mart, A. (2013). Changes in Nonnutritional Factors and Factors and Antioxidant Activity during Germination of Nonconventional Legumes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 8120–8125. <https://doi.org/https://doi.org/10.1021/jf4022652>
- Al-Laith, A. A., Alkhuzai, J., & Freije, A. (2015). Assessment of antioxidant activities of three wild medicinal plants from Bahrain. *Arabian Journal of Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/J.ARABJC.2015.03.004>
- Antolovich, M.; Prenzler, P.D.; Patsalides, E. ., & McDonald, S.; Robards, K. (2002). Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, 127, 183–198.
- Aramèndiz, T.H.; Cardona, C.E.; Combatt, C. . (2016). Contenido Nutricional de Líneas de Fríjol Caupí (*Vigna unguiculata* L. Walp.). *Seleccionadas de Una Población Criolla. Información Tecnológica*, 27, 53–60.
- Ayedemi, K.D.; Olorunsanya, A. (2012). Comparative analysis of phenolic composition and antioxidant effect of four Cowpea (*Vigna Unguiculata*) varieties on broiler meat. Departmente of Animal Production. Faculty of Agriculture, University of Ilorin (Vol. 2).
- Ayyagari, R., Narasinga Rao, B. S., & Roy, D. N. (1989). Lectins, trypsin inhibitors, BOAA and tannins in legumes and cereals and the effects of processing. *Food Chemistry*, 34(3), 229–238. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(89\)90143-X](https://doi.org/10.1016/0308-8146(89)90143-X)
- Barroga, C. F., Laurena, A. C., & Mendoza, E. M. T. (1985). Polyphenols in mung bean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek): determination and removal. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 33(5), 1006-1009.
- Benzie, I. ., & Strain, J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power.” *Analytical Biochemistry*, 1, 70–76. <https://doi.org/10.1006 / abio.1996.0292>

- Bezerra, M. A., Santelli, R. E., Oliveira, E. P., Villar, L. S., & Escaleira, L. A. (2008). Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*, 76(5), 965–977. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.05.019>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Bronte, N. (2017). *Legumbres, una historia de sabor, salud y sostenibilidad*. Universidad Complutense de Madrid. Retrieved from <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/NATALIA BRONTE GOMEZ AREVALILLO.pdf>
- Cai, R.; Hettlarachchy, N.; Jalaluddin, M. (2003). High-performance liquid chromatography determination of phenolic constituents in 17 varieties of cowpeas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 1623–1627. <https://doi.org/10.1021/jf020867b>
- Caracuel, A. (2008). Técnicas de Cocciòn Saludables aplicables a la alimentaciòn Mediterrànea. *Anales de La Real Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental*, 21(1), 171–180. Retrieved from <http://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/3327141.pdf>.
- Cardona-Ayala, C., & Jarma-Orozco, A. (2013). Mecanismos de adaptaciòn a sequía en caupí (*Vigna unguiculata* (L .) Walp .). Una revisiòn Drought adaptation mechanisms in the cowpea (*Vigna unguiculata* (L .) Walp .). A review, 7(2), 277–288.
- Carvalho, A. F. U., de Sousa, N. M., Farias, D. F., da Rocha-Bezerra, L. C. B., da Silva, R. M. P., Viana, M. P., ... Filho, F. R. F. (2012). Nutritional ranking of 30 Brazilian genotypes of cowpeas including determination of antioxidant capacity and vitamins. *Journal of Food Composition and Analysis*, 26(1–2), 81–88. <https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2012.01.005>
- Casanova, E. (2015). Cuantificaciòn de flavonoides totales y taninos presentes en el extracto acuoso de hojas de *Thea sinensis* L. y su capacidad antioxidante. *Ucv-Scientia*, 4(2), 161–174.
- Casp, A., & April, J. (2003). Procesos de conservaciòn de alimentos. Retrieved from <http://www.acyja.com/Libros/Procesos-indice.pdf>
- Castañeda, B., Ramos, E., & Ibáñez, L. (2008). Evaluaciòn de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. *Revista Horizonte Médico*, 8(1), 56–72.

Cavalcante, R. B. M., Araújo, M. A. D. M., Rocha, M. D. M., Silva, K. J. D., & Moreira-Araújo, R. S. D. R. (2017). Effect of thermal processing on total polyphenol content in the grain of cowpea cultivars. *Revista Ciência Agronômica*, 48(5SPE), 806-810.

Cedeño, N.; Torres, E. (2017). *Elaboración Y Comercialización De Enlatados De Zarandaja en Guayaquil y su exportación al mercado español*. Universidad De Guayaquil.

Cengel, Y. (2007). *Transferencia de calor y masa*. (M.-H. Interamericana, Ed.) (Tercera). México.

Cerón, I. ., & Higueta, J.C.; Cardona, C. (2011). Capacidad antioxidante y contenido fenólico total de tres frutas cultivadas en la región andina, 5(2010), 17–26.

Cevallos Caillagua, L. del C. (2015). Optimización de extracción de antioxidantes de la zarandaja., 6–7. <https://doi.org/10.1007/s00281-012-0343-7>

Cheng, Z., Moore, J., & Yu, L. (2006). High-throughput relative DPPH radical scavenging capacity assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(20), 7429–7436. <https://doi.org/10.1021/jf0611668>

Coronado, M., Vega, S., Gutierrez, T., Vazquez, F & Radilla, C. (2015). Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Revista Chilena de Nutrición*, 42(7).

Deka, R. K., & Sarkar, C. R. (1990). Nutrient composition and antinutritional factors of *Dolichos lablab* L. seeds. *Food Chemistry*, 38(4), 239–246. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(90\)90180-C](https://doi.org/10.1016/0308-8146(90)90180-C)

Deng, G.-F., Lin, X., Xu, X.-R., Gao, L.-L., Xie, J.-F., & Li, H.-B. (2013). Antioxidant capacities and total phenolic contents of 56 vegetables. *Journal of Functional Foods*, 5(1), 260–266. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2012.10.015>

Deng, J., Cheng, W., & Yang, G. (2011). A novel antioxidant activity index (AAU) for natural products using the DPPH assay. *Food Chemistry*, 125(4), 1430–1435. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2010.10.031>

Djordjevic, T. M., Šiler-Marinkovic, S. S., & Dimitrijevic-Brankovic, S. I. (2011). Antioxidant activity and total phenolic content in some cereals and legumes. *International Journal of Food Properties*, 14(1), 175–184. <https://doi.org/10.1080/10942910903160364>

Duranti, M. (2006). Grain legume proteins and nutraceutical properties. *Fitoterapia*, 77, 67–82. <https://doi.org/10.1016 / j.fitote.2005.11.008>

Ehlers, J. D., & Hall, A. E. (1997). Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). *Field Crops Research*, 53(1–3), 187–204. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(97\)00031-2](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(97)00031-2)

El-Adawy, T. A. (2002). Nutritional composition and antinutritional factors of chickpeas (*cicer arietinum* L.) undergoing different cooking methods and germination. *Plant Foods for Human Nutrition*, 57(1), 83–97. <https://doi.org/10.1023/A:1013189620528>

FAO. (2003). Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: report of a joint WHO/FAO expert consultation, Geneva, 28 January - 1 February 2002. *WHO Technical Report Series*, 149. Retrieved from http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/42665/1/WHO_TRS_916.pdf?ua=1

FAO. (2014). Lablab (*Lablab purpureus*).

FAO. (2016). *Legumbres, semillas nutritivas para un futuro sostenible. Legumbres, un viaje por todas las regiones del planeta.*

Figuerola, G., Armijos, A. & Pérez, E. (2012). Efecto del tamaño de partícula sobre la capacidad antioxidante de un subproducto de guayaba (*Psidium guajava* L.). *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 3(2), 202-209.

Frota, K. d. M. G.; Soares, R. A. M.; Arêas, J. A. G. (2008). Composição química do feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp), cultivar BRS-Milênio. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 28. <https://doi.org/470-476>

Galarza, I. (2017). Evaluación de la digestibilidad gastrointestinal in vitro y actividad antioxidante en concentrados proteicos de zarandaja (*Lablab purpureus* L. Sweet). Retrieved from <http://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/26603>

Gómez, P. M.; Hurtado, M. C.; Mata, M. C. S. (2011). Vegetales silvestres de uso alimentario: determinación de compuestos bioactivos y valoración de la capacidad antioxidante. Universidad Complutense de Madrid.

Granda, R. (2009). Proyecto De Factibilidad Para La Creación De Una Empresa Productora De Zarandaja Orgánica Por Goteo Y Su Comercialización En El Cantón Puyango, Provincia De Loja. Universidad Nacional de Loja.

Guija, E., Inocente, M. Á., Ponce, J., & Zarzosa, E. (2015). Evaluacion de la técnica DPPH para determinar la capacidad antioxidante. *Horizonte Médico*, 2(1), 0–3. Retrieved from <http://www.scielo.org.co/pdf/vitae/v16n1/v16n1a15.pdf>

Guillén, S., Mir-Bel, J., Oria, R., & Salvador, M. L. (2017). Influence of cooking conditions on organoleptic and health-related properties of artichokes, green beans, broccoli and carrots. *Food Chemistry*, 217, 209–216. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.067>

Gutiérrez-Urbe, J. A., Romo-Lopez, I., & Serna-Saldívar, S. O. (2011). Phenolic composition and mammary cancer cell inhibition of extracts of whole cowpeas (*Vigna unguiculata*) and its anatomical parts. *Journal of Functional Foods*, 3(4), 290–297. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2011.05.004>

Gutiérrez, A; Ledesma, L ; García, I.; Grajales, O. (2006). Capacidad antioxidante total en alimentos convencionales y regionales de Chiapas, México. *Revista Cubana de Salud Pública*.

Heimler, D., Vignolini, P., Dini, M.G., Romani, A. (2005). Rapid tests to assess the antioxidant activity of *Phaseolus vulgaris* L. dry beans. Italy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 3053–3056.

Henle, T. (2005). Protein-bound advanced glycation endproducts (AGEs) as bioactive amino acid derivatives in foods. *Amino Acids*, 29(4 SPEC. ISS.), 313–322. <https://doi.org/10.1007/s00726-005-0200-2>

Hidalgo, F. J., & Zamora, R. (2017). *Food Processing Antioxidants. Advances in Food and Nutrition Research* (1st ed., Vol. 81). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2016.10.002>

Hou, P. Chen, J. Alloatti, D. Li, L. Mozzoni, B. Zhang, A. S. (2009). Genetic variability of seed sugar content in worldwide soybean germplasm collections,. *Crop Sci.*, 903–912.

Huang, D., Boxin, O. U., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 1841–1856. <https://doi.org/10.1021/jf030723c>

INEC. (2010). Resultados del Censo 2010 de población y vivienda en el Ecuador. Quito.

INIAP. (1993). INIAP -Estación Experimental Santa Catalina. *Guia Para La Producción de Semilla de Rye Grass Anual*, 35.

INIAP. (2012). GRANOS ANDINOS. "Redescubriendo conocimientos y sabores". Boletín divulgativo n.

Kala, BK.; Soria, PT.; Mohan, VR; Vadivel, V. (2010). Nutrient and Chemical Evolution of raw seeds varieties of. *Avances En Bio Research*, 1(0976–4585), 44–53.

Kalogeropoulos, N., Chiou, A., Ioannou, M., Karathanos, V. T., Hassapidou, M., & Andrikopoulos, N. K. (2010). Nutritional evaluation and bioactive microconstituents (phytosterols, tocopherols, polyphenols, triterpenic acids) in cooked dry legumes usually consumed in the Mediterranean countries. *Food Chemistry*, 121(3), 682–690. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.005>

Kamatchi, B., Soris, T., Mohan, V., & Vadivel, V. (2010). Nutrient and Chemical Evaluation of Raw Seeds of Five Varieties of Lablab purpureus (L .) Sweet, 1(June), 44–53.

Kong, Y., Fu, Y.-J., Zu, Y.-G., Liu, W., Wang, W., Hua, X., & Yang, M. (2009). Ethanol modified supercritical fluid extraction and antioxidant activity of cajanin stilbene acid and pinostrobin from pigeonpea [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.] leaves. *Food Chemistry*, 117(1), 152–159. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2009.03.091>

Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., García-parilla, M. C., Troncoso, A. M., & Fett, R. (2004). Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos 1, 24(4), 691–693.

L.W. Kitch, O. Boukar, C. Endondo, L. L. M. (1998). Farmer acceptability criteria in breeding cowpea. *Agricultura Experimental*, 34, 475–486.

Labarca, M.; Mora, S.; Silva, S.; Bracho, B.; Rincón, C. (1999). Optimización de riego en frijol *Vigna unguiculata* (L.) Walp en suelos de la altiplanicie de Maracaibo. *Revista de La Facultad de Agronomía*, 16, 306–317.

Laguna, E. (2001). "Sobre el frijol flamenco o careto" -Lablab purpureus (L.) Sweet- en tierras valencianas. *Flora Montiberica*, 17, 12–20.

Londoño, J. (2012). Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad. Grupo de Investigación en Ingeniería en Alimentos -GRIAL. Retrieved from <http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/133/3/9.129-162.pdf>

M. Sugimoto, H. Goto, K. Otomo, M. Ito, H. Onuma, A. Suzuki, M. Sugawara, S. Abe, M. Tomita, T. S. (2010). Metabolomic profiles and sensory attributes of edamame under

various storage duration and temperature conditions. *J. Agric. Food Chem.*, 58, 8418–8425.

MAGAP-Zapotillo. (2017). Informe de producción de legumbres 2017. *Ministerio de Agroindustrias, Ganadería, Acuicultura y Pesca- MAGAP*.

MAGAP. (2015). *La Política Agropecuaria Ecuatoriana*. Retrieved from <https://www.agricultura.gob.ec/la-politica-agropecuaria-ecuatoriana-hacia-el-desarrollo-territorial-rural-sostenible-2015-2025/>

Maia, F. M. M., Oliveira, J. T. A., Matos, M. R. T., Moreira, R. A., & Vasconcelos, I. M. (2000). Proximate composition, amino acid content and 63 haemagglutinating and trypsin-inhibiting activities of some Brazilian *Vigna unguiculata* (L) Walp cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 453-458.

Marathe, S. A., Rajalakshmi, V., Jamdar, S. N., & Sharma, A. (2011). Comparative study on antioxidant activity of different varieties of commonly consumed legumes in India. *Food and Chemical Toxicology*, 49(9), 2005–2012. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.04.039>

Marina, D., Avella, G., Alberto, C., García, O., & Cisneros, A. M. (2008). Medición de Fenoles y Actividad Antioxidante en Malezas Usadas para Alimentación Animal. *Centro Nacional de Metrología*, 1–5. Retrieved from http://cenam.mx/simposio2008/sm_2008/memorias/M2/SM2008-M220-1108.pdf

Mazur, W. M., Duke, J. A., Wähälä, K., Rasku, S., & Adlercreutz, H. (1998). Isoflavonoids and Lignans in Legumes: Nutritional and Health Aspects in Humans. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 9(4), 193–200. [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(97\)00184-8](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(97)00184-8)

Mb.D. Faye, A. Jooste, J. Lowenberg-DeBoer, J. F. (2006). Impact of sucrose contents and cooking time on cowpea prices in Senegal, South Africa, 9, 207–212.

Miller, N.;Rice-Evans, C. (1997). Factores influencing the antioxidant activity determined by the ABTS radical cation assay. *Free Radical Research*, 26, 195–199.

Moreno-Escamilla, J. O., de la Rosa, L. A., López-Díaz, J. A., Rodrigo-García, J., Núñez-Gastélum, J. A., & Alvarez-Parrilla, E. (2015). Effect of the smoking process and firewood type in the phytochemical content and antioxidant capacity of red Jalapeño

pepper during its transformation to chipotle pepper. *Food Research International*, 76, 654–660. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2015.07.031>

Motalib M.; Habib R.; Hasan R.; Nayeem J.; Uddin N.; Rana S. (2012). Anti-Inflammatory, Antioxidant and Cytotoxicity Potential of Methanolic Extract of Two Bangladeshi Bean *Lablab Purpureus* (L.) Sweet White and Purple, 3(03), 776–781.

Nassourou, M. A., Noubissié, T. J. B., Njintang, Y. N., & Bell, J. M. (2017). Diallel analyses of soluble sugar content in cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). *The Crop Journal*, 5(6), 553–559. <https://doi.org/10.1016/J.CJ.2017.05.005>

Okwu, D.; Orji, B. (2007). Composición fitoquímica y calidad nutricional de *Glycine max* y *Vigna unguiculata* (L.). *American Journal of Food Technology*, 2, 512–520. <https://doi.org/10.3923 / ajft.2007.512.520>

Oomah, B.O., Corb, A.L., Balasubramanians, P. (2010). Antioxidant and anti-inflammatory activities of beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 8224–8230.

Paseto, R.; Trindade, M.; De Melo, M. (2018). *Natural Antioxidants and Food Applications: Healthy Perspectives. Food Control and Biosecurity*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811446-9/00002-2>

Pengelly, B. C., & Maass, B. L. (2001). *Lablab purpureus* (L.) Sweet - Diversity, potential use and determination of a core collection of this multi-purpose tropical legume. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 48(3), 261–272. <https://doi.org/10.1023/A:1011286111384>

Perales, L.; Rodríguez, P.; Valero, T.; Ruiz, E.;Ávila, J.M.;Valera, G. (2017). Informe sobre Legumbres , Nutrición y Salud. *Fundacion Española de Nutrición*, 94.

Pérez-Burillo, S., Rufián-Henares, J. Á., Pastoriza, S., Giusti, F., Capuano, E., Sagratini, G., ... Xiao, J. (2019). A comprehensive investigation of the behaviour of phenolic compounds in legumes during domestic cooking and in vitro digestion. *Food Science and Human Wellness*, 3(3), 2–11. <https://doi.org/10.1007/s12349-010-0017-8>

Pérez-Jiménez, J., Arranz, S., Taberner, M., Díaz- Rubio, M. E., Serrano, J., Goñi, I., & Saura-Calixto, F. (2008). Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. *Food Research International*, 41(3), 274–285. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2007.12.004>

Pérez-Jiménez, J., & Saura-Calixto, F. (2007). Metodología para la evaluación de capacidad antioxidante en frutas y hortalizas. In V Congreso Iberoamericano de Tecnología Postcosecha y Agroexportaciones. Cartagena (pp. 1150-60).

Peters, M.; Franco, L.; Oberthur, T. (2005). leguminosa multipropósito Abono verde . Caupí es un excelente abono que puede reemplazar la aplicación de 40 a 80 kg / ha de nitrógeno ; se puede utilizar para recuperar la fertilidad del suelo . Su descomposición es muy rápida es necesario plantar el cul. Retrieved from https://ciat-library.ciat.cgiar.org/forrajes_tropicales/pdf/Brochures/008 Vigna Unguiculata 2005.pdf

Pogo, M. (2013). "Plan de negocio para producción y su exportación de zarandaja a la India". Universidad de las Américas. <https://doi.org/10.1190/segam2013-0137.1>

Prior, R. L., Wu, X., y Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 4290–4302. <https://doi.org/https://doi.org/10.1021/jf0502698>

Prodanov, M., Sierra, I., & Vidal-Valverde, C. (2004). Influence of soaking and cooking on the thiamin, riboflavin and niacin contents of legumes. *Food Chemistry*, 84(2), 271–277. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00211-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00211-5)

Punia, D.; Preet, K. (2000). Proximate composition, phytic acid, polyphenols and digestibility (in vitro) of four brown cowpea varieties. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 51, 189–193. <https://doi.org/10.1080 / 09637480050029292>

Quinga, M. A. (2017). Caracterización de proteínas obtenidas a partir de harina de Firiguero (*Vigna unguiculata* L.) y de sus hidrolizados mediante electroforesis SDS-PAGE y RP- UHPLC. UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO. Retrieved from <http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/26606/1/AL 649.pdf>

Quintanilla, J. (2016). 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.). Universidad Nacional Agraria de la Selva.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)

Reddy, N. R., Pierson, M. D., Sathe, S. K., & Salunkhe, D. K. (1985). Dry bean tannins: A review of nutritional implications. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 62(3), 541–549. <https://doi.org/10.1007/BF02542329>

Robards, K.; Prenzler, P.; Tucker, G.; Swatsitang, P. Glover, W. (1999). Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, 66, 401–436.

Roginsky, V., & Lissi, E. A. (2005). Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry*, 92(2), 235–254. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2004.08.004>

Ruiz, N. (2019). Determinación del contenido nutricional en harinas de chocho (*Lupinus mutabilis*), gandul (*Cajanus cajan*) y zarandaja (*Lablab purpureus*) como fuentes de carbohidratos y minerales. UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO. Retrieved from <http://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/29422>

Ryszard, A.; Troszynska, A.; Barylko, N.; Shahidi, F. (2004). polyphenolics extracts from legumes seeds: correlations between total antioxidant activity, total phenolic content, tannins content and astringency. *Journal of Food Lipids*, 11, 278–286.

Sadh, P.; Saharah, P.; Duhan, J. (2017). Bio-augmentation of antioxidants and phenolic content of *Lablab purpureus* by solid state fermentation with GRAS filamentous fungi. *Resource Efficient Technologies*, 3, 285–292. <https://doi.org/10.1016 / J.JEFFIT.2016.12.007>

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, 55–62.

Samaniego, F. (2016). Optimización de parámetros de extracción de compuestos antioxidantes en frígüelo (*Vigna unguiculata*). Universidad Técnica Particular de Loja.

Samshuddin, S., Kamath, S. D., Arunkumar, D., & Avinash, N. G. (2015). Determination of total phenolic content and total antioxidant activity in locally consumed food stuffs in Moodbidri, Karnataka, India. *Advances in Applied Science Research*, 6(6), 99–102.

Sánchez, M. E. (2013). *Antioxidantes. Consumo de antioxidantes naturales en adultos mayores de entre 65 y 75 años con dislipidemia*. Universidad Abierta Interamericana. Retrieved from <http://imgbiblio.vaneduc.edu.ar/fulltext/files/TC112550.pdf>

Saner, Samim, Karadag,Ayse, Ozcelik, B. (2009). Review of methods to determine antioxidant capacities. *Food Analytical Methods*, 2, 41–60. <https://doi.org/10.106/j.foodchem.2009.12.060>

Scherer, R., & Godoy, H. T. (2009). Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry*, 112(3), 654–658. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2008.06.026>

Shaahu, D. T., Kaankuka, F. G., & Okpanachi, U. (2015). Proximate , Amino Acid , Anti-Nutritional Factor And Mineral Composition Of Different Varieties Of Raw Lablab Purpureus Seeds. *International Journal of Scientific & Tecnology Research*, 4(04), 157–161.

Siddhuraju, P., & Becker, K. (2007). The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seed extracts. *Food Chemistry*, 101(1), 10–19. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2006.01.004>

Singh, B., Singh, JP, Shevkani, K. y otros. (2017). Constituyentes bioactivos en legumbres y sus beneficios para la salud. *Revista de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 54, 858–870. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s13197-016-2391-9>

Singh, B.; Ajeigbe, H.A;Tarawali, S.A ;Fernandez-Rivera, S ;Abubakar, M. (2003). Improving the production and utilization of cowpea as food and fodder. *Field Crops Research*, 84(1–2), 169–177. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(03\)00148-5](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(03)00148-5)

Singh, A., & Abhilash, P. C. (2019). Varietal dataset of nutritionally important Lablab purpureus (L.) Sweet from Eastern Uttar Pradesh, India. *Data in Brief*, 24, 103935. <https://doi.org/10.1016/J.DIB.2019.103935>

Solanilla Duque, J. F. (2012). Caracterizacion fisico quimica y nutricional de la harina de frijol caupi (*Vigna unguiculata* L.) cultivado en el departamento del Tolima.

Sosulski, F. W., & Dabrowski, K. J. (1984). Composition of free and hydrolyzable phenolic acids in the flours and hulls of ten legume species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 32(1), 131–133. <https://doi.org/10.1021/jf00121a033>

Speisky, H. (2006). Antioxidantes en alimentos: cultivando salud. *Indualimentos*, 42, 28–31.

Sreeramulu, D., Reddy, C. V. K., & Raghunath, M. (2009). Antioxidant activity of commonly consumed cereals, millets, pulses and legumes in India. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*, 46(1), 112–115.

Teixeira-guedes, C. I., Oppolzer, 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 - Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.01.010>

Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Hawkins Byrne, D. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6–7), 669–675. <https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2006.01.003>

Urarte, E.; Asensio, A.C.; Tellechea, E.; Pires, L.; Moran, J. F. (2014). Evaluation of the anti-nitrative effect of plant antioxidants using a cowpea Fesuperoxide dismutase as a target. *Plant Physiology and Biochemistry*, 83, 356–364.

Valsta, L. M., Kilkinen, A., Mazur, W., Nurmi, T., Lampi, A.-M., Ovaskainen, M.-L., ... Pietinen, P. (2003). Phyto-oestrogen database of foods and average intake in Finland. *British Journal of Nutrition*, 89(5), 822–830. <https://doi.org/10.1079/BJN2002794>

Vargas, Y. R., Villamil, O. E., Murillo, E., Murillo, W., & Solanilla, J. F. (2012). CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y NUTRICIONAL DE LA HARINA DE FRIJOL CAUPÍ *Vigna Unguiculata* L. CULTIVADO EN COLOMBIA. *Vitae*, 19(1), s320–s321.

Vicente, L. (2017). Evaluación de la capacidad antioxidante y su relación con la composición fenólica en lentejas. Universidad de Salamanca.

Vidigal, P., Duarte, B., Cavaco, A. R., Caçador, I., Figueiredo, A., Matos, A. R., ... Monteiro, F. (2018). Preliminary diversity assessment of an undervalued tropical bean (*Lablab purpureus* (L.) Sweet) through fatty acid profiling. *Plant Physiology and Biochemistry*, 132, 508–514. <https://doi.org/10.1016/J.PLAPHY.2018.10.001>

Wang, N., Hatcher, D. W., & Gawalko, E. J. (2008). Effect of variety and processing on nutrients and certain anti-nutrients in field peas (*Pisum sativum*). *Food Chemistry*, 111(1), 132–138. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2008.03.047>

Xiong H, Shi A, Mou B, Qin J, Motes D, L. W. (2016). Diversidad genética y estructura de la población de caupí (*Vigna unguiculata* L. Walp). *PLOS ONE*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1371/journal.pone.016094>

Xu, B.; Chang, S. (2007). A Comparative Study on Phenolic Profiles and Antioxidant Activities of Legumes as Affected by Extraction Solvents. *Journal of Food Science*, 72, 159–166. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00260.x> Citado por: 331

Xu, B., & Chang, S. K. C. (2008). Effect of soaking, boiling, and steaming on total phenolic content and antioxidant activities of cool season food legumes. *Food Chemistry*, 110(1), 1–13. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2008.01.045>

Xu, B. J., Yuan, S. H., & Chang, S. K. C. (2007). Comparative analyses of phenolic composition, antioxidant capacity, and color of cool season legumes and other selected food legumes. *Journal of food science*, 72(2), S167-S177.

Y.S. Li, M. Du, Q.Y. Zhang, G.H. Wang, M. Hashemi, X. B. L. (2012). Greater differences exist in seed protein, oil, total soluble sugar and sucrose content of vegetable soybean genotypes [*Glycine max* (L.) Merrill] in Northeast China. *Australian Journal of Crop Science*, 6, 1681–1686.

Zavala, R., & Sesibet, M. (2013). Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en dos variedades de papas nativas (*solanum tuberosum*) pigmentadas con diferentes tipos de cocción.

Zaquinaula, F. (2016). *Determinación de la capacidad antioxidante en alimentos tradicionales*. Universidad Técnica Particular de Loja. Retrieved from <http://dspace.utpl.edu.ec/handle/123456789/16302>

Zhang, B., Deng, Z., Tang, Y., Chen, P. X., Liu, R., Dan Ramdath, D., ... Tsao, R. (2017). Bioaccessibility, in vitro antioxidant and anti-inflammatory activities of phenolics in cooked green lentil (*Lens culinaris*). *Journal of Functional Foods*, 32, 248–255. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2017.03.004>

Zhao, C., Liu, Y., Lai, S., Cao, H., Guan, Y., San Cheang, W., ... Xiao, J. (2019). Effects of domestic cooking process on the chemical and biological properties of dietary phytochemicals. *Trends in Food Science and Technology*, 85(December 2017), 55–66. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.01.004>

Zia-Ul-Haq, M., Ahmad, S., Amarowicz, R., & De Feo, V. (2013). Antioxidant activity of the extracts of some cowpea (*Vigna unguiculata* (L) Walp.) cultivars commonly consumed in Pakistan. *Molecules*, *18*(2), 2005–2017. <https://doi.org/10.3390/molecules18022005>

Zou, J., Huang, Y., Zhu, L., Cui, Z., & Yuan, B. (2019). Multi-wavelength spectrophotometric measurement of persulfates using 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) (ABTS) as indicator. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, *216*, 214–220. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2019.03.019>

ANEXOS

ANEXO 1. Encuesta de investigación.



UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA ENCUESTA

OBJETO. Los datos de esta encuesta serán utilizados para determinar los métodos domésticos de cocción de legumbres (granos secos) en el contexto del proyecto “Valorización de alimentos tradicionales de la población ecuatoriana” ejecutado por la Sección de Química Básica y Aplicada de la UTPL.

1. Indique por favor cuáles de estas legumbres consume su familia y la forma de consumo:
- 2.

Grano seco	Marque X	Como las consume habitualmente			
		Menestra	Sopa	Sola / aliñada	Otras
Firigüero					
Zarandaja					
Arveja					
Fréjol					
Garbanzo					
Lenteja					

3. ¿Con qué frecuencia consume legumbres?

Frecuencia	Marque X
Todos los días	
3 veces por semana	
2 veces por semana	
1 vez por semana	
De vez en cuando	

4. Previo a la cocción de las legumbres ¿Usted?

Condición	Marque X
Las remoja	
Las precoce	

5. ¿Si usted remoja, por cuánto tiempo lo hace?

1 hora o menos ☐ 2 a 3 horas ☐ una mañana ☐ toda la ☐
noche

6. ¿Si usted precoce, por cuánto tiempo lo hace?

Indique:.....

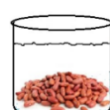
7. ¿Qué cantidad de agua emplea para remojar o pre-cocer?

Que cubra la porción de legumbres ☐



→ Nivel de agua

Que exceda la porción de legumbres ☐



→ Nivel de agua

8. ¿Para cocinar las legumbres utiliza el agua de remojo o precocción?



SI



NO

9. ¿Qué cantidad del agua de remojo o precocción utiliza para la cocción?

Toda el agua ☐

La mitad del agua ☐

Menos de la mitad ☐

10. ¿Cuál de los siguientes métodos emplea para cocer las legumbres? Indique las condiciones:

Método	Marque X	Tiempo aproximado para cocer	Intensidad (bajo, medio, alto)
Olla de presión - cocina a gas			
Olla normal - cocina a gas			
Olla de barro - cocina a gas			
Olla - cocina de inducción			
Olla de barro - leña			
Olla lenta - eléctrica			

11. ¿Qué cantidad de agua utiliza para la cocción de las legumbres?

Que **cubra** la porción
de legumbres

Que **exceda** la porción
de legumbres

¿Cuánto?.....



→ Nivel de agua de



→ Nivel de agua

Otro
Indique

12. Indique si adiciona algún ingrediente para cocinar las legumbres.

13. ¿Qué cantidad consume su familia por cada vez que come legumbres?

Menos de ½ lb

½ lb

1 lb

1 ½ lb

2 lb Más de

2 lb

INFORMACIÓN ADICIONAL

N. de miembros de la familia

La familia está integrada por niños, ¿Qué edades?

De 0 a 5 años

De 6 a 12 años

La familia está integrada por jóvenes, ¿Qué edades?

De 13 a 15 años

De 16 a 18 años

Edad de la persona encuestada

25 años o menos

26-30 años

31-39 años

40-60 años

más de 61 años

Fecha:

Dirección:

Barrio

Calle principal

N. casa

Calle secundaria

¡Muchas gracias!

Elaboración: Docentes investigadoras de la UTPL

ANEXO 2. Formato de análisis sensorial.

EVALUACIÓN SENSORIAL DE LEGUMBRES

PROYECTO:

“Valorización de alimentos tradicionales de la población ecuatoriana”

NOMBRE DEL JUEZ: _____

FECHA: _____

INSTRUCCIONES:

A continuación se le presentan cuatro muestras de _____ cocido y se le pide evaluar la **DUREZA** de las mismas, para ello coloque en su boca al menos 3 granos al mismo tiempo y proceda así:

1. Ordene las muestras de menor a mayor dureza

Suave → **Dura**

--	--	--

2. Según el orden anterior y con las anclas previamente presentadas, asigne la posición que tendría cada muestra en la siguiente escala:

Código	Muy suave	Muy dura
_____	0 ----- 10	
_____	0 ----- 10	
_____	0 ----- 10	

¡Gracias por su colaboración!

Elaboración: Docentes investigadoras de la UTPL.

ANEXO 3. Población y tamaño de muestra

El tamaño de la muestra poblacional se empleó los datos del Censo de población efectuados por el INEC de la ciudad de Loja (INEC, 2010). La población total de 214855 habitantes, población urbano de 170380 habitantes y densidad poblacional de 3,9 habitantes por hogar, estos datos se calculó el universo poblacional de la zona urbana de la ciudad que corresponde a un total de 43687 hogares (Universo poblacional=población urbana/densidad poblacional).

Para calcular el tamaño de la muestra se empleó en la siguiente fórmula:

$$n = \frac{(S^2 * p * Q * N)}{E^2(N - 1) + (S^2 * p * Q)}$$

Donde:

N= universo poblacional.

S= Coeficiente de confianza, al 95% tiene un valor de 1,96.

p= probabilidad de éxito (50%).

Q= probabilidad de fracaso (50%).

E= precisión (5%)

Los resultados fueron determinados los cálculos de la aplicación de un total de 185 encuestas, se limitó el perímetro urbano de la ciudad de Loja en los cuatros sectores (Tabla 5) antes mencionadas.

ANEXO 4. Preparación de reactivos para las extracciones.

HCl 2N

$$N = \frac{(\text{número equivalente de solución}) * (Ci)}{\frac{PM}{\frac{100 g}{d}}}$$

Donde la cantidad al pesar de HCl es:

Luego: el volumen que se toma de HCl es:

PM= 36, 46094 g/mol.

Número equivalente de solución = 1

Ci= 37g

d= 1190 g/L

N= 12,07

$$Vi = \frac{Cf \times Vf}{Ci}$$

Cf=2N

Vf= 25 mL

Ci= 12.07

Vi= 4,14 mL HCl aforar a 25 mL con agua destilada.

Metanol: Agua 1: 1

250 mL de solución (125 mL Metanol: 125 mL Agua destilada) adicionado HCl 2N

Solución acidificada hasta alcanzar pH 2

Acetona: Agua 7:3

250 mL de solución (175mL Acetona: 75mL de Agua destilada).

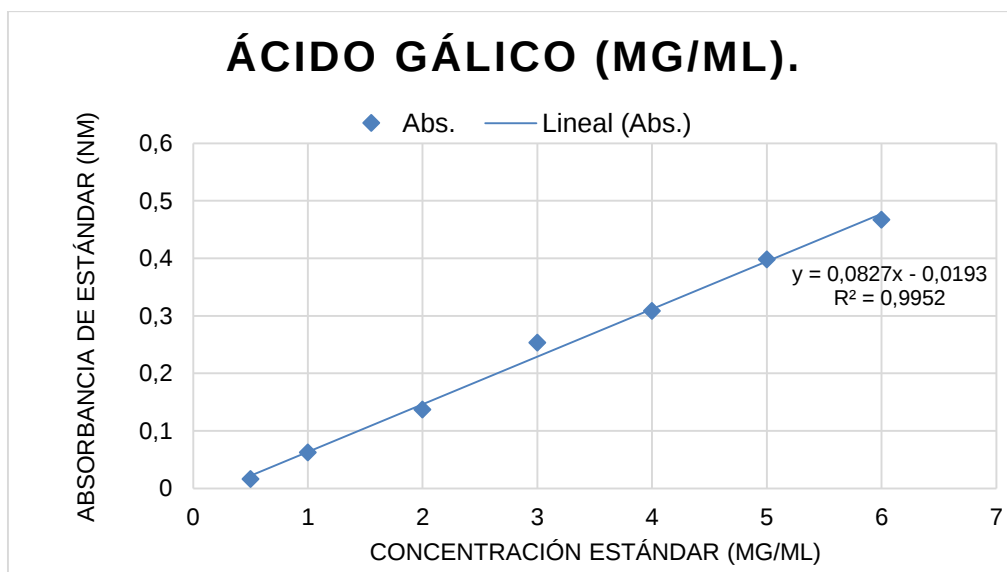
ANEXO 4. Datos de cuantificación de método de fenoles de firiguero.

Resultados de capacidad antioxidante de los extractos de firiguero.

Extracción	Muestra	Código muestra	w muestra (g)	Volumen del sobrenadante (mL)	Absorbancia	Co (mg/mL)	Factor de Dilución	Co (mg/40mL)	Co (mg EAG/100g)
metanol/agua 50:50 y acetona/agua 70:30	Firiguero ebullición	FT3 (1) E	3,0008	40	0,007	0,3180	1	12,7207	423,9095
		FT3 (2) E	3,0004	40	0,007	0,3180	1	12,7207	423,9660
		AFTE3(1) E	3,0010	40	0,026	0,5518	4	22,0717	2941,9187
		AFTE3 (2) E	3,0007	40	0,033	0,6284	4	25,1350	3350,5550
	Firiguero presión	FT1 (1) P	3,0007	40	0,011	0,3704	1	14,8166	493,7717
		FT1 (2) P	3,0003	40	0,004	0,2858	1	11,4309	380,9911
		AFT1 (1) P	3,0001	40	0,047	0,8057	4	32,2289	4297,0488
		AFT1 (2) P	3,0008	40	0,056	0,9065	4	36,2596	4833,3208
	Firiguero crudo	FT1(1)C	3,0002	40	0,030	0,5921	1	23,6840	789,4140
		FT1(2)C	3,0000	40	0,026	0,5478	1	21,9105	730,3507

Elaboración: El autor.

ANEXO 4.1 Curva de calibración para fenoles totales de firiguero.



Pendiente: 0,0827 mg/mL.
Intersección: -0,0193
 R^2 : 0,9952

ANEXO 4.2 Cuantificación del contenido fenólico de firiguero.

Siguiendo con la ecuación de la recta, se calcula la concentración del contenido fenólico de los extractos de firiguero. Ejemplo se tomó el segundo valor de la tabla 15.

$$y = mx + b$$

Donde:

- y= absorbancia.
- m= pendiente.
- x= concentración.
- b= intersección.

Luego se despeja la fórmula:

$$y = 0,007 \frac{mg}{mL} (X) + (-0,0193)(x)$$

$$x = \frac{0,007 + 0,0193}{0,0827 \text{ mg/mL}}$$

$$x = 0,3180 \frac{mg}{mL}$$

Se multiplicó por el factor de dilución

$$x = 0,3180 * 1 \frac{mg}{mL} EAG * F.D$$

$$x = 0,3180 * 1 \frac{mg}{mL} EAG * 1$$

$$x = 0,3180 \frac{mg}{mL} EAG$$

La extracción se llevó a cabo con un volumen de 40 mL de solvente

$$0,3180 \text{-----} 1\text{mL}$$

$$X \text{-----} 40 \text{ mL (Volumen extraído)}$$

$$X = 12,72 \text{ mg EAG.}$$

Los resultados son expresados en mg EAG/100g de muestra.

$$12,72 \text{ mg EAG} \text{-----} 3,00 \text{ g peso de muestra}$$

$$X \text{-----} 100 \text{ g}$$

$$X = 423,9095 \text{ mg EAG/100g}$$

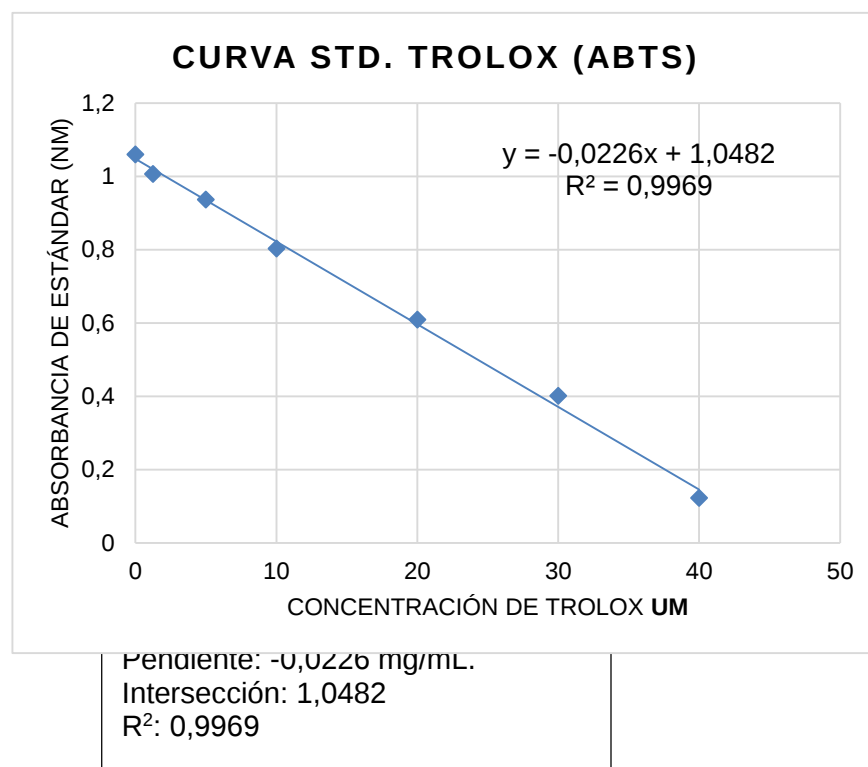
ANEXO 5. Datos de cuantificación del método ABTS de firiguero.

Resultados de ABTS de extractos de firiguero.

Extracción	Muestra	Código muestra	w muestra (g)	Volumen del sobrenadante (mL)	Absorbancia	Co (µM)	Factor Dilución	Co (µmol ET/g) 40mL	Co (µmol ET/g)
metanol/agua 50:50 y acetona/agua 70:30	Firiguero ebullición	FT3 (1) E	3,0008	40	0,362	30,3481	1	1,2139	0,4045
		FT3 (2) E	3,0004	40	0,392	29,0354	1	1,1614	0,3871
		AFTE3(1) E	3,0010	40	0,132	40,5251	4	1,6210	2,1606
		AFTE3 (2) E	3,0007	40	0,144	39,9941	4	1,5998	2,1325
	Firiguero presión	FT1 (1) P	3,0007	40	0,317	32,3687	1	1,2947	0,4315
		FT1 (2) P	3,0003	40	0,312	32,5752	1	1,3030	0,4343
		AFT1 (1) P	3,0001	40	0,142	40,1121	2	1,6045	1,0696
		AFT1 (2) P	3,0008	40	0,131	40,5693	2	1,6228	1,0816
	Firiguero crudo	FT1(1)C	3,0002	40	0,170	38,8437	1	1,5537	0,5179
		FT1(2)C	3,0000	40	0,164	39,1386	1	1,5655	0,5218

Elaboración: El Autor.

ANEXO 5.1 Curva de calibración para ABTS de firiguero.



Estándar	Concentración de Trolox (μM)	Alícuota Sol. Madre Trolox (μL)	Metanol (μL)
E 1,25	1.25	12.5	987.5
E 5	5	50	950
E 10	10	100	900
E 20	20	200	800
E 30	30	300	700
E 40	40	400	600

ANEXO 5.2 Cálculos del método ABTS.

Los resultados de la capacidad antioxidante de una muestra son expresados en $\mu\text{MET/g}$ muestra, se obtienen reemplazando el valor de la absorbancia de la muestra (y) en la ecuación

de la recta dada por la curva de calibración del método. En este caso se obtuvo la siguiente ecuación:

$$y = -0,0226x - 1,0482$$

Se despeja x (concentración en $\mu\text{MET/mL}$ de muestra) como se indica en el ejemplo, donde $y = 0,392$:

$$x = (y + 1,0482) / -0,0226$$

$$x = (0,392 - 1,0482) / -0,0226$$

$$x = 29,035 \mu\text{MET/mL de muestra}$$

Luego se determina la concentración de la muestra utilizada en 40 mL de extracto (concentración; mg/mL), 30 μL que es la alícuota que se tomó del sobrenadante para el ensayo que tiene la siguiente concentración:

$$\begin{array}{ccc} 29,035 \mu\text{MET/mL} & \times & 1000 \mu\text{L} \\ x & & 40 \text{ mL} \end{array}$$

$$x = 1,1614 \mu\text{MET/mL}$$

Se multiplicó por el factor de dilución

$$X = 1,1614 \mu\text{MET/mL} * 1$$

$$X = 1,1614 \mu\text{MET/mL}$$

Esta dosis tiene una concentración de 29,035 $\mu\text{MET/mL}$ en 3 g de muestra, en 1 g de muestra se tiene:

$$\begin{array}{ccc} 1,1614 \mu\text{MET/mL} & \times & 3 \text{ g} \\ x & & 1 \text{ g} \end{array}$$

$$x = 0,3871 \mu\text{MET/g muestra}$$

La capacidad antioxidante por método ABTS de la muestra utilizada en este ejemplo es **0,3871 $\mu\text{MET/g muestra}$.**

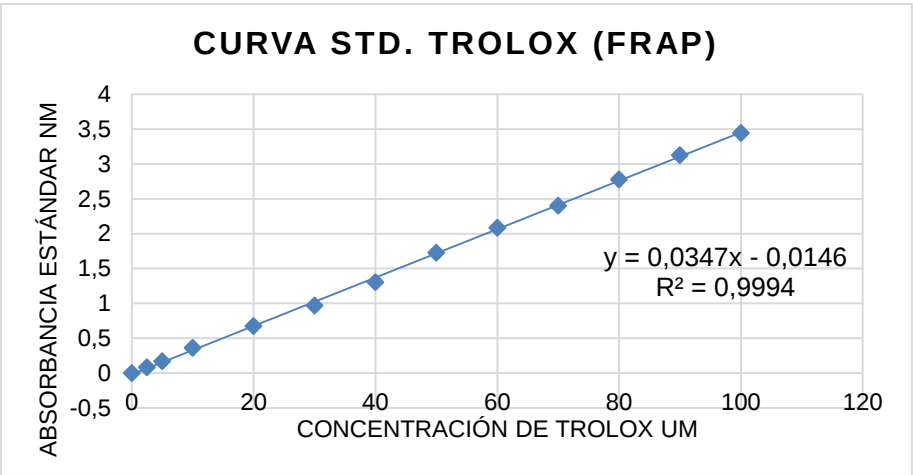
ANEXO 6. Datos de cuantificación del método FRAP de firiguero.

Resultados de capacidad antioxidante de firiguero por el método FRAP.

Extracción	Muestra	Código muestra	w muestra (g)	Volumen del sobrenadante (mL)	Absorbancia	Co (µM)	Factor Dilución	Co (µmol ET/g) 40mL	Co (µmol ET/g)
metanol/agua 50:50 y acetona/agua 70:30	Firiguero ebullición	FT3 (1) E	3,0008	40	0,738	21,8050	1	0,8722	0,2907
		FT3 (2) E	3,0004	40	0,750	22,1508	1	0,8860	0,2953
		AFTE3(1) E	3,0010	40	2,865	83,0826	4	3,3233	4,4296
		AFTE3 (2) E	3,0007	40	2,888	83,7454	4	3,3498	4,4654
	Firiguero presión	FT1 (1) P	3,0007	40	1,187	34,7349	1	1,3894	0,4630
		FT1 (2) P	3,0003	40	1,245	36,4159	1	1,4566	0,4855
		AFT1 (1) P	3,0001	40	1,938	56,3679	4	2,2547	3,0062
		AFT1 (2) P	3,0008	40	1,921	55,8780	4	2,2351	2,9794
	Firiguero crudo	FT1(1)C	3,0002	40	2,013	58,5293	1	2,3412	0,7803
		FT1(2)C	3,0000	40	2,016	58,6158	1	2,3446	0,7815

Elaboración: El Autor.

ANEXO 6.1 Curva de calibración para FRAP de firiguero



Estándar	Concentración de Trolox (μM)	Alícuota Sol. Madre Trolox (μL)	Metanol (μL)
E 2.5	2.5	25	975
E 5	5	50	950
E 10	10	100	900
E 20	20	200	800
E 30	30	300	700
E 40	40	400	600
E 50	50	500	500
E 60	60	600	400
E 70	70	700	300
E 80	80	800	200
E 90	90	900	100
E 100	100	1000	0

ANEXO 6.2 Cálculos del método FRAP.

Los resultados de la capacidad antioxidante de una muestra son expresados en $\mu\text{MET/g}$ muestra, se obtienen reemplazando el valor de la absorbancia de la muestra (y) en la ecuación de la recta dada por la curva de calibración del método. En este caso se obtuvo la siguiente ecuación:

$$y = 0,0347x - 0,0146$$

Se despeja x (concentración en $\mu\text{MET/mL}$ de muestra) como se indica en el ejemplo, donde $y = 0,738$:

$$x = (y + 0,0146) / 0,0347$$

$$x = (0,738 + 0,0146) / 0,0347$$

$$x = 21,698 \mu\text{MET/mL de muestra}$$

Luego se determina la concentración de la muestra utilizada en 40 mL de extracto (concentración; mg/mL), 30 μL que es la alícuota que se tomó del sobrenadante para el ensayo que tiene la siguiente concentración:

$$\begin{array}{ccc} 21,698 \mu\text{MET/mL} & \times & 1000 \mu\text{L} \\ X & & 40 \text{ mL} \\ \hline x = 0,86756 \mu\text{MET/mL} \end{array}$$

Se multiplicó por el factor de dilución

$$X = 0,86756 \mu\text{MET/mL} * 1$$

$$X = 0,86756 \mu\text{MET/mL}$$

Esta dosis tiene una concentración de 21,698 $\mu\text{MET/mL}$ en 3 g de muestra, en 1 g de muestra se tiene:

$$\begin{array}{ccc} 0,86756 \mu\text{MET/L} & \times & 3 \text{ g} \\ X & & 1 \text{ g} \end{array}$$

$$x = 0,2907 \mu\text{MET/g muestra}$$

La capacidad antioxidante por método FRAP de la muestra utilizada en este ejemplo es **0,2907 $\mu\text{MET/g}$ muestra.**

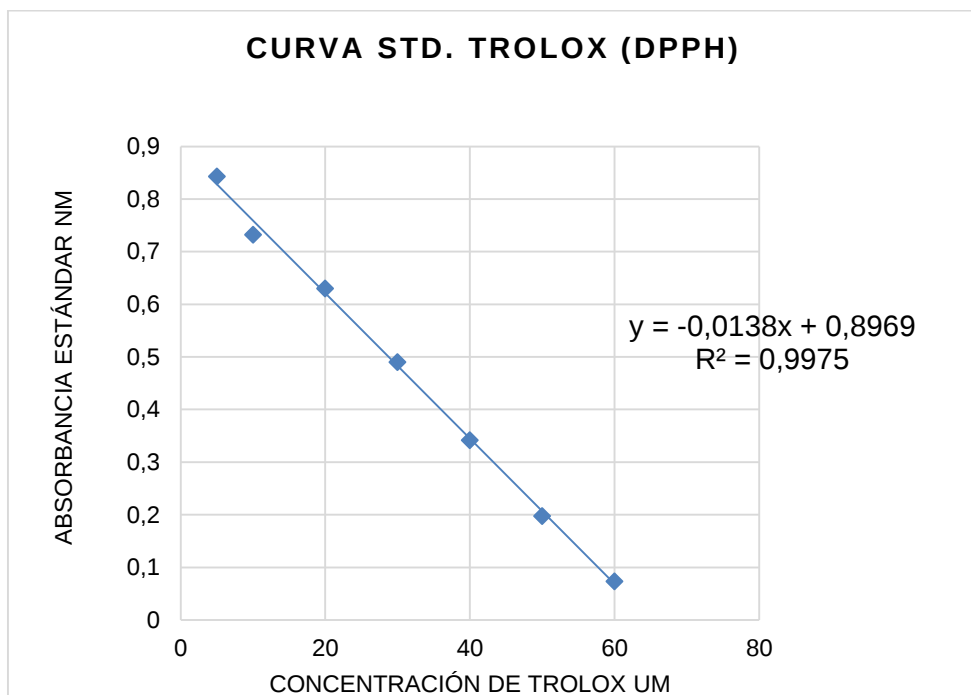
ANEXO 7. Cuantificación del método DPPH de firiguero.

Capacidad antioxidante de extractos para el método DPPH.

Extracción	Muestra	Código muestra	w muestra (g)	Volumen del sobrenadante (mL)	Absorbancia	Co (µM)	Factor Dilución	Co (µmol ET/g) 40mL	Co (µmol ET/g)
metanol/agua 50:50 y acetona/agua 70:30	Firiguero ebullición	FT3 (1) E	3,0008	40	0,589	22,2874	1	0,8915	0,2971
		FT3 (2) E	3,0004	40	0,617	20,2826	1	0,8113	0,2704
		AFTE3(1) E	3,0010	40	0,616	20,3792	4	0,8152	1,0865
		AFTE3 (2) E	3,0007	40	0,622	19,9444	4	0,7978	1,0635
	Firiguero presión	FT1 (1) P	3,0007	40	0,485	29,8720	1	1,1949	0,3982
		FT1 (2) P	3,0003	40	0,513	27,8188	1	1,1128	0,3709
		AFT1 (1) P	3,0001	40	0,621	20,0169	4	0,8007	1,0675
		AFT1 (2) P	3,0008	40	0,613	20,5725	4	0,8229	1,0969
	Firiguero crudo	FT1(1)C	3,0002	40	0,357	39,1473	1	1,5659	0,5219
		FT1(2)C	3,0000	40	0,367	38,3744	1	1,5350	0,5117

Elaboración: El Autor.

ANEXO 7.1 Curva de calibración para DPPH de firiguero.



Estándar	Concentración de Trolox (μM)	Alícuota Sol. Madre Trolox (μL)	Metanol (μL)
E 2.5	2.5	25	975
E 5	5	50	950
E 10	10	100	900
E 20	20	200	800
E 30	30	300	700
E 40	40	400	600
E 50	50	500	500

ANEXO 7.2 Cálculos del método DPPH.

Los resultados de la capacidad antioxidante de una muestra son expresados en $\mu\text{MET/g}$ muestra, se obtienen reemplazando el valor de la absorbancia de la muestra (y) en la ecuación de la recta dada por la curva de calibración del método. En este caso se obtuvo la siguiente ecuación:

$$y = -0,0138x + 0,8969$$

Se despeja x (concentración en $\mu\text{MET/mL}$ de muestra) como se indica en el ejemplo, donde $y = 0,622$:

$$x = (y + 0,8969) / 0,0138$$

$$x = (0,622 - 0,8969) / -0,0138$$

$$x = 19,944 \mu\text{MET/mL de muestra}$$

Luego se determina la concentración de la muestra utilizada en 40 mL de extracto (concentración; mg/mL), 30 μL que es la alícuota que se tomó del sobrenadante para el ensayo que tiene la siguiente concentración:

$$\begin{array}{ccc} 19,944 \mu\text{MET/mL} & \times & 1000 \mu\text{L} \\ X & & 40 \text{ mL} \\ x = 0,7978 \mu\text{MET/mL} \end{array}$$

Se multiplicó por el factor de dilución

$$X = 0,7978 \mu\text{MET/mL} * 1$$

$$X = 0,7978 \mu\text{MET/mL}$$

Esta dosis tiene una concentración de 19,944 $\mu\text{MET/mL}$ en 3 g de muestra, en 1 g de muestra se tiene:

$$\begin{array}{ccc} 0,7978 \mu\text{MET/L} & \times & 3 \text{ g} \\ X & & 1 \text{ g} \end{array}$$

$$x = 1,0635 \mu\text{MET/g muestra}$$

La capacidad antioxidante por método DPPH de la muestra utilizada en este ejemplo es **1,0635 $\mu\text{MET/g}$ muestra.**

ANEXO 8 Análisis estadístico

ABTS firiguero

Method

Null hypothesis All means are equal
Alternative hypothesis At least one mean is different
Significance level $\alpha = 0,05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor	Levels	Values
TRATAMIENTO	3	1. 2. 3

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
TRATAMIENTO	2	0,016220	0,008110	148,34	0,001
Error	3	0,000164	0,000055		
Total	5	0,016384			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0,0073938	99,00%	98,33%	96,00%

Means

TRATAMIENTO	N	Mean	StDev	95% CI
1	2	0,39581	0,01234	(0,37917. 0,41245)
2	2	0,43289	0,00199	(0,41625. 0,44953)
3	2	0,51986	0,00281	(0,50323. 0,53650)

Pooled StDev = 0,00739381

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

TRATAMIENTO	N	Mean	Grouping
3	2	0,51986	A
2	2	0,43289	B
1	2	0,39581	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Simultaneous 95% CIs