



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR

Facultad de ciencias agropecuarias, recursos naturales y del ambiente

Carrera de ingeniería agroindustrial

Tema:

**DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE *IN VITRO* DE
CUATRO VARIEDADES DE FRÉJOL (*PHASEOLUS VULGARIS L.*).**

**Proyecto de Investigación previo a la obtención del título de Ingeniería Agroindustrial,
otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar a través de la Facultad de Ciencias
Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente, Carrera de Agroindustrias**

Autores:

Melanie Dayanna Molina Penagos

Tarciso Jeancarlo Ramírez Vera

Tutor:

Ing. Favian Bayas Morejón PhD

Guaranda – Ecuador

2024

DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE IN VITRO DE
CUATRO VARIEDADES DE FRÉJOL (*PHASEOLUS VULGARIS* L.).

REVISADO Y APROBADO POR:

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Favian Bayas', is written over a circular stamp. The signature is crossed out with several horizontal lines.

Ing. Favian Bayas Morejón PhD

TUTOR:

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Carlos Moreno', is written over a circular stamp. The signature is crossed out with several horizontal lines.

Ing. Carlos Moreno Mejia PhD

PAR LECTOR

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Franz Verdecoto', is written over a circular stamp. The signature is crossed out with several horizontal lines.

Ing. Franz Verdecoto Mendoza MsC

PAR LECTOR

CERTIFICACIÓN DE AUTORÍA

Yo, Molina Penagos Melanic Dayanna, con CI: 0951703123 y Ramirez Vera Tarciso Jeancarlo, con CI: 0929363810 declaro que el trabajo y los resultados presentados en este informe, no han sido previamente presentados para ningún grado o calificación profesional; y, que las referencias bibliográficas que se incluyen han sido consultadas y citadas con sus respectivos autores.

La Universidad Estatal de Bolívar, puede hacer uso de los derechos de publicación correspondiente a este trabajo, según los establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, su Reglamentación y la Normativa Institucional vigente.



Melanic Molina Penagos
Autor
CI: 0951703123



Tarciso Ramirez Vera
Autor
CI: 0929363810



Ing. Favian Bayas Morejón PhD
Tutor
CI: 0201811916



Notaria Tercera del Cantón Guaranda
Msc. Ab. Henry Rojas Narvaez
Notario



Ti...

N° ESCRITURA: 20240201003P00838

DECLARACION JURAMENTADA

OTORGADA POR: RAMIREZ VERA TARCISO JEANCARLO y

MOLINA PENAGOS MELANIE DAYANNA

INDETERMINADA DI: 2 COPIAS

H.R. Factura: 001-006-000005884

En la ciudad de Guaranda, capital de la provincia Bolívar, República del Ecuador, hoy día seis de Abril del dos mil veinticuatro, ante mi Abogado HENRY ROJAS NARVAEZ, Notario Público Tercero del Cantón Guaranda, comparecen RAMIREZ VERA TARCISO JEANCARLO, soltero de ocupación estudiante, domiciliado en el Cantón Simón Bolívar de la Provincia del Guayas y de paso por este lugar, con celular número (0996647804), su correo electrónico es tarcisorv@gmail.com, y, MOLINA PENAGOS MELANIE DAYANNA, soltera de ocupación estudiante, domiciliada en la Ciudad de Guayaquil de la Provincia del Guayas y de paso por este lugar, con celular número (0996675510), su correo electrónico es melanie.dayanna44@gmail.com, por sus propios y personales derechos, obligarse a quienes de conocer doy fe en virtud de haberme exhibido sus documentos de identificación y con su autorización se ha procedido a verificar la información en el Sistema Nacional de Identificación Ciudadana; bien instruida por mí el Notario con el objeto y resultado de esta escritura pública a la que proceden libre y voluntariamente, advertido de la gravedad del juramento y las penas de perjurio, me presentan su declaración Bajo Juramento declaran lo siguiente manifestamos que el criterio e ideas emitidas en el presente trabajo de Investigación titulado **DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE IN VITRO DE CUATRO VARIEDADES DE FRÉJOL (PHASEOLUS VULGARIS L.)** es de mi exclusiva responsabilidad en calidad de autores, previo a la obtención del título de Ingenieros en Agroindustrias en la Universidad Estatal de Bolívar, Es todo cuanto podemos declarar en honor a la verdad, la misma que hacemos para los fines legales pertinentes. HASTA AQUÍ LA DECLARACIÓN JURADA. La misma que elevada a escritura pública con todo su valor legal. Para el otorgamiento de la presente escritura pública se observaron todos los preceptos legales del caso, leída que les fue a los comparecientes por mí el Notario en unidad de acto, quedando incorporado al protocolo de esta notaria, aquellos se ratifican y firman conmigo de todo lo cual doy Fe.

RAMIREZ VERA TARCISO JEANCARLO
 c.c. 0929363810

MOLINA PENAGOS MELANIE DAYANNA
 c.c. 0951703123



AB. HENRY ROJAS NARVAEZ
 NOTARIO PUBLICO TERCERO DEL CANTON GUARANDA

EL NOTA....

NOMBRE DEL TRABAJO

TESIS_Fréjol_Molina_Ramírez
Rev.docx

AUTOR

Melanie Molina y Tarciso Ramírez

RECUENTO DE
PALABRAS

17210 Words

RECUENTO DE CARACTERES

92889 Characters

RECUENTO DE
PÁGINAS

76 Pages

TAMAÑO DEL ARCHIVO

9.5MB

FECHA DE ENTREGA

Apr 4, 2024 5:35 AM GMT-5

FECHA DEL INFORME

Apr 4, 2024 5:36 AM GMT-5

● 0% de similitud general

Esta entrega no coincidió con ningún contenido comparado.

- 0% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 0% Base de datos de trabajos entregados
- 0% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

● Excluir del Reporte de Similitud

- Bloques de texto excluidos manualmente



Ing. Favian Bayas Morejón PhD

Tutor

DEDICATORIA

Dedico con todo mi corazón de manera muy especial a mis padres, por su dedicación, compromiso y tenacidad para optimizar cualquiera de sus potencialidades que los convierten en mis pilares, ustedes mis eternos y queridos padres. Por persistir y demostrarme su apoyo en el instante que uno siente que desistir es la mejor opción. Ayudándome a mantenerme firme en mis metas, que me sienta orgullosa de mi vida y en lo que me ha costado, en gozar de mis logros y superarme cada día convirtiéndolos en una vida maravillosa, y si veo que no es así, me brindan su apoyo para tener la fortaleza de empezar de nuevo, porque es lo que me han enseñado perseverancia. Permitiéndome soñar y creer en los anhelos de mi corazón.

Molina Penagos Melanie

DEDICATORIA

A mis queridos padres, ya que ellos han sido mi pilar fundamental ante toda mi formación puesto que siempre han estado a mi lado apoyándome incondicionalmente y brindándome de sus consejos llenos de amor y sabiduría que me han servido cómo luz en mis momentos más oscuros y me han llenado de fuerza ante los desafíos más complejos de la vida, demostrándome que cada dificultad presente es una oportunidad para aprender, mejorar y descubrir a profundidad mi capacidad de perseverancia.

A mi hermano Erik, por su ánimo constante, motivación y palabras de apoyo que me han servido a lo largo de los años como un combustible para tomar impulso hacia adelante, recordándome que puedo alcanzar mis metas con empeño y disciplina.

Ramírez Vera Tarciso

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por sus planes conmigo, por su inmenso amor, de manera que persistía en el instante que sientes que desistir es la mejor opción, por cumplir con los anhelos de mi corazón, brindándome día y noche su calma que me ayudaba a continuar, que me resplandecía como lumbrera.

Mis grandes agradecimientos y total gratitud a mis padres, por creer en mí, por brindarme su presencia y dedicación en toda mi vida de estudiante, desde que estaba en mis primeros años en la escuela y hasta el día de hoy cumpliendo un logro más, muchas gracias por su preocupación dada la distancia, y su entera confianza.

Mi gratitud también se extiende a la Provincia de Bolívar, a sus cantones San José de Chimbo y Guaranda por su gente amable y por su hospitalidad en un lugar lejos de casa, pero que desde el día uno se sintió como un segundo hogar, agradecida con cada vivencia, oportunidad y aprendizaje. Agradeciendo de nuevo a Dios por permitirme conocer personas excepcionales, que los llevo en mi corazón.

De igual manera a la Universidad Estatal de Bolívar, y sobre todo a la Carrera de Agroindustrias que me enamoró estando en primer semestre, y me voy orgullosa de convertirme en una Ingeniera Agroindustrial. Agradeciendo a cada uno de los profesionales que con su dedicación en la docencia me compartieron su entusiasmo a la profesión, a los compañeros colegas por sus vivencias de cada día, muchas gracias.

Así mismo, agradezco al Departamento de Investigación y Vinculación de la Universidad Estatal de Bolívar, por su hospitalidad en su recibimiento en el proceso del trabajo de titulación, agradecida por su dedicación, disposición, compromiso y sobre todo en su apoyo incondicional y profesional.

Molina Penagos Melanie

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios porque es quien me ha brindado sabiduría y oportunidades día a día, dándome las fuerzas necesarias para continuar a lo largo de toda mi vida estudiantil.

A mis queridos padres, gracias por el amor y el apoyo absoluto a lo largo de los años, por guiar cada uno de mis pasos con paciencia e inteligencia, por haberme brindado varias oportunidades para poder superarme a pesar de todas las dificultades que se presentaron en el camino. Cada sacrificio realizado no ha pasado desapercibido y cada palabra de aliento junto a un gesto de apoyo deja un recuerdo imborrable y una impresión duradera en mi corazón.

También a mi hermano Erik junto a su hermosa familia, que a pesar de la distancia me motivan y me apoyan incondicionalmente para poder llegar a culminar mis metas planteadas, demostrándome de tal manera que cada esfuerzo tiene su recompensa.

A la Universidad Estatal de Bolívar, por ser el lugar de mi crecimiento intelectual y hogar tan bonitas experiencias junto a mis compañeros de la carrera, de igual manera extendiendo mi agradecimiento a todos los docentes que me han apoyado y sobre todo han compartido de sus grandes ideas y conocimientos, guiando mi camino académico con dedicación e intelecto, para hacer de mi un excelente profesional Agroindustrial.

Y finalmente agradezco al departamento de investigación y vinculación de la Universidad Estatal de Bolívar junto a todo su grupo de técnicos de laboratorio, por su cálido recibimiento, guía y apoyo durante los distintos trabajos y prácticas realizadas, cuya contribución ha enriquecido enormemente a este proyecto de titulación.

Ramírez Vera Tarciso

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CONTENIDO	PAG.
CAPÍTULO I	1
1.1. INTRODUCCIÓN	1
1.2. PROBLEMA	3
1.2.1. Enunciado del problema	3
1.3. OBJETIVOS	4
1.3.1. Objetivo General	4
1.3.2. Objetivos Específicos	4
1.4. HIPÓTESIS	5
1.4.1. Hipótesis nula (Ho)	5
1.4.2. Hipótesis alterna (Ha)	5
CAPÍTULO II	6
2. MARCO TEÓRICO	6
2.1. Fréjol común (<i>Phaseolus vulgaris L.</i>)	6
2.1.1. Origen del fréjol	6
2.1.2. Generalidades del fréjol	7
2.1.3. Taxonomía del fréjol	7
2.1.4. Morfología del fréjol	8
2.1.5. Valor nutricional del fréjol	9
2.1.6. Composición del fréjol	10
2.1.7. Variedades de fréjol	11
2.1.7.1. Fréjol Marrón	12
2.1.7.2. Fréjol Negro	13
2.1.7.3. Fréjol Panamito	14
2.1.7.4. Fréjol UEB-Bombolín	15
2.1.8. Características nutricionales	16
2.1.8.1. Proteínas	16
2.1.8.2. Fibra	17
2.1.8.3. Grasa	18
2.1.8.4. Minerales	18
2.1.8.5. Cenizas	19
	X

2.1.8.6. Carbohidratos	19
2.1.8.7. Lípidos	20
2.1.8.8. Vitaminas	20
2.1.8.9. Tiamina	21
2.1.8.10. Riboflavina	21
2.1.8.11. Niacina	22
2.1.8.12. Aminoácidos	22
2.1.9. Actividad biológica	23
2.1.9.1. Fenoles	23
2.1.9.2. Polifenoles	24
2.1.9.3. Flavonoides	24
2.1.9.4. Antocianinas	25
2.1.9.5. Antioxidantes	26
2.1.10. Métodos para la determinación antioxidante	27
2.1.10.1. ABTS	27
2.1.10.2. FRAP	28
2.1.10.3. DPPH	28
2.1.11. Aprovechamiento del fréjol en la Agroindustria.	29
CAPÍTULO III	31
3. MARCO METODOLÓGICO	31
3.1. Ubicación y características de la investigación	31
3.1.1. Zona de vida de la investigación.	31
3.1.2. Situación geográfica y edafoclimática	31
3.2. Materiales	31
3.2.1. Material experimental	31
3.2.2. Material de oficina	32
3.2.3. Material de campo	32
3.2.4. Material de bioseguridad	32
3.2.5. Materiales de laboratorio	32
3.3. Equipos	33
3.4. Reactivos	35
3.5. Métodos	36

3.5.1. Características del experimento	36
3.5.2. Factores en estudio	36
3.5.3. Tratamientos	37
3.5.4. Tipo de diseño experimental	37
3.5.5. Modelo de Análisis de varianza (ANOVA)	38
3.5.6. Modelo de pruebas de rangos múltiples	38
3.6. Metodología experimental	39
3.6.1. Análisis bromatológico del fréjol	39
3.6.2. Caracterización física del fréjol	40
3.6.3. Obtención de extractos de las diferentes variedades de fréjol (<i>Phaseolus vulgaris L.</i>)	40
3.6.4. Diagrama de flujo para la obtención de extractos de las diferentes variedades de fréjol (<i>Phaseolus vulgaris L.</i>)	41
3.6.5. Cuantificación del contenido de polifenoles totales, flavonoides totales y antocianinas de las cuatro variedades de fréjol.	42
3.6.5.1. Polifenoles totales:	42
3.6.5.2. Flavonoides totales:	43
3.6.5.3. Antocianinas:	43
3.6.6. Determinación la actividad antioxidante in vitro por el método ABTS, FRAP y DPPH de las cuatro variedades de fréjol.	44
3.6.6.1. Método ABTS	44
3.6.6.2. Método FRAP	44
3.6.6.3. Método DPPH	44
3.6.7. Aprovechamiento del mejor tratamiento rico en antioxidantes para la obtención de un suplemento proteico.	44
3.6.8. Método de evaluación (variables de respuesta)	45
3.6.9. Análisis de datos	45
3.6.10. Diagrama de flujo para la obtención de un suplemento proteico de la variedad de fréjol marrón (extracción por puntos isoeléctricos)	46
CAPÍTULO IV	48
4.1. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	48
4.1.1. Caracterización física del fréjol.	48

4.1.2. Resultados de los análisis bromatológicos de las materias primas.	49
4.1.2.1. Correlación de las variables fisicoquímicas	50
4.1.3. Obtención de extractos de las distintas variedades.	51
4.1.4. Cuantificación de polifenoles, flavonoides y antocianinas totales.	52
4.1.4.1. Polifenoles	52
4.1.4.2. Flavonoides	56
4.1.4.3. Antocianinas	59
4.1.5. Actividad antioxidante <i>in vitro</i> mediante ABTS, FRAP, y DPPH.	62
4.1.5.1. Resultados del método ABTS	62
4.1.5.2. Resultados del método FRAP	65
4.1.5.3. Resultados del método DPPH	68
4.1.6. Mejor tratamiento en antioxidantes.	71
4.1.7. Suplemento proteico	72
CAPÍTULO V	73
5.1. CONCLUSIONES	73
5.2. RECOMENDACIONES	74
BIBLIOGRAFÍA	75
ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Nº	Detalle	Pág.
1	Taxonomía del fréjol.....	8
2	Componentes nutritivos del fréjol.....	11
3	Parámetros geográficos	31
4	Equipos utilizados en la experimentación.....	33
5	Reactivos utilizados en la investigación	35
6	Características del experimento	36
7	Factores en estudio.....	36
8	Combinación de tratamientos para la investigación.....	37
9	Modelo de análisis de varianza (ANOVA)	38
10	Análisis bromatológico del fréjol.....	39
11	VARIABLES DE RESPUESTA.....	45
12	Resultados de la caracterización física de las diferentes variedades de fréjol.	48
13	Resultados obtenidos del análisis bromatológico de la harina de fréjol	49
14	Resultados obtenidos mediante la correlación de Pearson.....	50
15	Análisis de Varianza para mg Eq AG/g muestra - Suma de Cuadrados Tipo III.....	53
16	Prueba de Múltiples Rangos por metodología Tukey HSD al 95% de confianza para mg Eq AG/g muestra por tratamientos.....	55
17	Análisis de Varianza para mg EqQ/g muestra - Suma de Cuadrados Tipo III.	56
18	Prueba de Múltiples Rangos por metodología Tukey HSD al 95% de confianza para EqQ/g muestra por tratamientos.	58
19	Análisis de Varianza para mg CY3GE/g muestra - Suma de Cuadrados Tipo III.....	59
20	Prueba de Múltiples Rangos por metodología Tukey HSD al 95% de confianza para mg CY3GE/g muestra por tratamientos.....	61

21	Análisis de Varianza para $\mu\text{mol ET/g}$ muestra por ABTS - Suma de Cuadrados Tipo III.	63
22	Prueba de Múltiples Rangos por metodología Tukey HSD al 95% de confianza para $\mu\text{mol ET/g}$ muestra por tratamientos en ABTS.	64
23	Análisis de Varianza para $\mu\text{mol ET/g}$ muestra por FRAP - Suma de Cuadrados Tipo III.	66
24	Pruebas de Múltiple Rangos por metodología Tukey HSD al 95% de confianza para $\mu\text{mol ET/g}$ muestra por tratamientos en FRAP.	67
25	Análisis de Varianza para $\mu\text{mol ET/g}$ muestra por DPPH - Suma de Cuadrados Tipo III.	69
26	Prueba de Múltiples Rangos por metodología Tukey HSD al 95% de confianza para $\mu\text{mol ET/g}$ muestra por tratamientos en DPPH.	71

ÍNDICE DE FIGURAS

Nº	Detalle	Pág.
1	Fréjol naciendo.....	6
2	Morfología del fréjol.....	9
3	Fréjol Marrón	12
4	Fréjol negro	13
5	Fréjol Panamito	14
6	Fréjol UEB-Bombolín.....	15
7	Clases de flavonoides.....	25

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Nº	Detalle	Pág.
1	Resultados gráficos obtenidos mediante correlación de Pearson.....	51
2	Curva estándar de ácido gálico	52
3	Interacción de la cuantificación de polifenoles totales entre variedad de fréjol (Factor A) y tipos de solvente (Factor B).	53
4	Análisis de medias para mg Eq AG/g muestra por tratamientos.	54
5	Curva estándar de Quercetina	56
6	Interacción de la cuantificación de flavonoides totales entre variedad de fréjol (Factor A) y tipos de solvente (Factor B).	57
7	Análisis de medias para mg EqQ/g muestra por tratamientos.	57
8	Interacción de la cuantificación de antocianinas totales entre variedad de fréjol (Factor A) y tipos de solvente (Factor B).	60
9	Análisis de medias para mg CY3GE/g muestra por tratamientos.....	60
10	Curva estándar de trolox por ABTS.....	62
11	Interacción de la determinación de antioxidantes totales entre variedad de fréjol (Factor A) y tipos de solvente (Factor B) en ABTS.	63
12	Análisis de medias para $\mu\text{mol ET/g}$ muestra por tratamientos en ABTS.....	64
13	Curva estándar de trolox por FRAP.....	65
14	Interacción de la determinación de antioxidantes totales entre variedad de fréjol (Factor A) y tipos de solvente (Factor B) en FRAP.	66
15	Análisis de medias para $\mu\text{mol ET/g}$ muestra por tratamientos en FRAP.....	67
16	Curva estándar de trolox por DPPH.....	68
17	Interacción de la determinación de antioxidantes totales entre variedad de fréjol (Factor A) y tipos de solvente (Factor B) en DPPH.	69
18	Análisis de medias para $\mu\text{mol ET/g}$ muestra por tratamientos en DPPH.....	70

ÍNDICE DE ANEXOS

Nº	Detalle
1	Mapa de ubicación de la investigación
2	Análisis bromatológicos de la materia prima.
3	Cuantificación de polifenoles, flavonoides y antocianinas totales
4	Determinación de la capacidad antioxidante
5	Análisis de proteínas del suplemento
6	Análisis bromatológicos de la materia prima
7	Caracterización de las materias primas.
8	Obtención de extractos de las variedades de fréjol (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)
9	Cuantificación del contenido de polifenoles, flavonoides y antocianinas totales.
10	Determinación de la actividad antioxidante in vitro por el método ABTS, FRAP y DPPH.
11	Aprovechamiento del mejor tratamiento para la obtención de un suplemento proteico.
12	Glosario de términos

RESUMEN

La presente investigación titulada: “Determinación de la capacidad antioxidante *in vitro* de cuatro variedades de fréjol (*Phaseolus Vulgaris L.*)”, tuvo como finalidad la evaluación de cuatro variedades de fréjol con el fin de seleccionar el mejor tratamiento. Los fréjoles comunes (*Phaseolus vulgaris L.*) corresponden a la tercera leguminosa alimentaria más importante, es un cultivo tradicional que forma parte de la dieta básica alimenticia al ser una alta fuente de proteína de bajo costo. Cabe mencionar que en Ecuador la superficie sembrada de fréjol había crecido un 6% aproximadamente, a su vez en la provincia de Bolívar en el cantón Guaranda cuenta con altos niveles de siembra del 10% al 50% en su gran variedad de fréjol, no obstante, la producción de fréjol se destina en su mayoría para consumo humano en forma directa. Aun así, su estudio es limitado es decir no consta con un análisis de sus propiedades nutricionales y funcionales de las variedades que se dan en la zona. Por lo tanto, se ha creado una oportunidad para elaborar un análisis de las diferentes variedades de fréjol, ya que presentan características distintas, como físicas en sus granos, tamaño, dureza y contenido de humedad, incluso establecer un análisis de actividad antioxidante. De tal manera que los resultados obtenidos de los análisis realizados los tratamientos T3 (Fréjol marrón + acetoneitrilo) y T12 (Fréjol UEB-Bombolín + Acetoneitrilo) fueron mejores en el contenido de polifenoles. En el caso de flavonoides se destacaron los tratamientos T8 (Fréjol panamito + Etanol) y T2 (Fréjol marrón + Etanol), y en antocianinas el tratamiento más alto fue el T6 (Fréjol negro + Acetoneitrilo). Los resultados revelan que la variedad de fréjol marrón demostró poseer propiedades antioxidantes, destacando una cuantificación de 73,49 $\mu\text{mol ET/g}$ muestra. Como consecuencia de esta investigación, se decidió llevar a cabo un experimento adicional para aprovechar las propiedades destacadas de la variedad de fréjol marrón, creando así un suplemento proteico, en el cual el contenido fue 70,81% de proteína, consolidando la posición de la variedad de fréjol marrón como una principal opción de proteína vegetal. Este estudio proporciona una base sólida para futuras investigaciones en el campo de la alimentación y la nutrición, abriéndole las puertas a nuevas posibilidades para mejorar la salud a través de la incorporación de alimentos con propiedades antioxidantes excepcionales, como la variedad de fréjol marrón.

SUMMARY

The purpose of this research entitled: “Determination of the in vitro antioxidant capacity of four varieties of beans (*Phaseolus Vulgaris* L.)” was the evaluation of four varieties of beans in order to select the best treatment. Common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) correspond to the third most important dietary legume; it is a traditional crop that is part of the basic diet as it is a high source of low-cost protein. It is worth mentioning that in Ecuador the area planted with beans had grown by approximately 6%, in turn in the province of Bolívar in the Guaranda canton it has high planting levels of 10% to 50% in its great variety of beans, however, bean production is mostly intended for direct human consumption. Even so, its study is limited, that is, it does not include an analysis of the nutritional and functional properties of the varieties that grow in the area. Therefore, an opportunity has been created to carry out an analysis of the different varieties of beans, since they present different characteristics, such as physical characteristics of their grains, size, hardness and moisture content, including establishing an analysis of antioxidant activity. In such a way that the results obtained from the analyzes carried out on treatments T3 (Brown Bean + Acetonitrile) and T12 (UEB-Bombolín Bean + Acetonitrile) were better in the polyphenol content. In the case of flavonoids, the treatments T8 (Panamita Bean + Ethanol) and T2 (Brown Bean + Ethanol) stood out, and in anthocyanins the highest treatment was T6 (Black Bean + Acetonitrile). The results reveal that the brown bean variety demonstrated to have antioxidant properties, highlighting a quantification of 73.49 $\mu\text{mol ET/g}$ sample. As a consequence of this research, it was decided to carry out an additional experiment to take advantage of the outstanding properties of the brown bean variety, thus creating a protein supplement, in which the content was 70.81% protein, consolidating the position of the variety of brown beans as a main vegetable protein option. This study provides a solid foundation for future research in the field of food and nutrition, opening the doors to new possibilities to improve health through the incorporation of foods with exceptional antioxidant properties, such as the variety of brown beans.

CAPÍTULO I

1.1. INTRODUCCIÓN

Como punto de partida, el fréjol pertenece a la familia de las leguminosas y es considerado uno de los más importantes del Ecuador para consumo humano ya que es una fuente importante de proteínas, calorías, vitaminas y minerales, por lo que se considera como fuente importante en la soberanía y seguridad alimentaria (Dumas Verduga, 2022).

Ecuador es un país andino, se encuentra ubicado en el centro de la tierra y en la dorsal montañosa de los Andes, tiene áreas agroecológicas muy diversas, se encuentra ubicado desde los 0 a 3500 m.s.n.m., las leguminosas de grano comestible son una especie importante dentro de los sistemas de cultivos. Al año se cosecha aproximadamente 120000 ha, de alrededor 14 especies de leguminosas, plantadas en la Sierra, Costa y Amazonia. Las especies de fréjol que más se cultiva en la región Andina son Fréjol voluble y arbustivo (*Phaseolus vulgaris L*) (Calderon Jaramillo, 2022).

Cabe mencionar que en Ecuador la superficie sembrada de fréjol había crecido un 6% aproximadamente; sin embargo, se obtuvo bajos rendimientos por hectárea. Los rendimientos bajos se deben a que el fréjol es asociado con el maíz suave choclo, ubicándolo como último cultivo principal. Sin embargo, se debe destacar que en la provincia de Bolívar en el cantón Guaranda cuenta con altos niveles de siembra, alrededor del 10% al 50% en su gran variedad de fréjol. Por tal motivo, es importante las áreas de cultivo de fréjol y que además de ser un producto básico e importante de la canasta familiar, posee un alto valor nutritivo y es un gran generador de empleo entre las familias campesinas (Curay Palate, 2019).

Según la investigación de Bedoya & Maldonado (2021) “Su capacidad antioxidante de fenoles reductores (flavonoides y antocianinas), su fibra dietaria (soluble e insoluble) contribuye al tránsito intestinal”.

El consumo de leguminosas presenta diversos beneficios relevantes para la salud, así también su consumo ejerce un rol fundamental asociado a la prevención de diversas enfermedades, ya que poseen un elevado contenido de minerales, entre

ellos, hierro, zinc, vitaminas del complejo B como B1, B2, B3 y B6, ácido fólico, vitamina C, cobre y magnesio. (Guerrero Wyss & Durán Agüero, 2020).

Además, se trata de un candidato de alto potencial por sus componentes esenciales. De tal manera, que cada variedad de fréjol consta con diferencias significativas respecto a sus propiedades nutricionales y funcionales en relación a las cuatro variedades de fréjol, tales como: Marrón, Negro, Panamito y UEB-Bombolín. Cabe recalcar que los antioxidantes aportan un sistema de defensa a las células y tejidos de nuestro cuerpo, ayudando a contrarrestar el daño oxidativo, mencionando los efectos benéficos y saludables.

Por lo tanto, el objetivo de este proyecto es la evaluación de cuatro variedades de fréjol con el fin de seleccionar el mejor tratamiento impulsando así al cultivo de leguminosas y en especial al fréjol, contribuyendo de esta forma al mejoramiento de la calidad, aportando una nueva alternativa generando nuevos conocimientos en relación a la capacidad antioxidante del fréjol, destacando que la investigación contribuirá de base para futuros análisis que se relacionen con el diseño y desarrollo de nuevos productos como alternativa de consumo, señalando con esta una matriz importante en el área alimentaria. Además, puede proporcionar una alternativa saludable y baja en calorías, pueden ser una excelente opción debido a su alto contenido de antioxidantes y nutrientes beneficiosos para la salud.

1.2. PROBLEMA

1.2.1. Enunciado del problema

La Universidad Estatal de Bolívar consta con grandes extensiones de terreno, que los estudiantes dan uso para cada uno de los cultivos, ya sea cereales, frutas, verduras o a su vez tubérculos. Cabe recalcar que su producción también abarca a una de las leguminosas más importante como lo es el fréjol, que contienen biocomponentes, como proteínas, carbohidratos, fibra, minerales y lípidos. A pesar de la presencia de antioxidantes, hay muchas limitaciones debido a dietas desequilibradas, muchas personas no ingieren cantidades adecuadas de nutrientes.

De la misma manera en la provincia Bolívar la producción de fréjol se destina en su mayoría para consumo humano en forma directa. Sin embargo, su estudio es limitado es decir no consta con un análisis de sus propiedades nutricionales y funcionales de las variedades que se dan en la zona. Por lo tanto, se ha creado una oportunidad para elaborar un análisis de las diferentes variedades de fréjol, ya que presentan características distintas, como físicas en sus granos, tamaño, dureza y contenido de humedad.

De tal manera que es importante establecer un análisis de actividad antioxidante para identificar sus propiedades nutricionales y biológicas en las cuatro variedades de fréjol, tales como: Marrón, Negro, Panamito y UEB-Bombolín.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. Objetivo General

- Determinar la capacidad antioxidante *in vitro* de cuatro variedades de fréjol (*Phaseolus vulgaris L.*)

1.3.2. Objetivos Específicos

- Caracterizar bromatológicamente las materias primas.
- Obtener extractos de las variedades de fréjol (*Phaseolus vulgaris L.*): Bombolín, panamito, negro y marrón.
- Cuantificar el contenido de polifenoles, flavonoides y antocianinas totales de las cuatro variedades de fréjol.
- Determinar la actividad antioxidante *in vitro* por el método ABTS, FRAP y DPPH de las cuatro variedades de fréjol.
- Aprovechar el mejor tratamiento rico en antioxidantes para la obtención de un suplemento proteico.

1.4. HIPÓTESIS

1.4.1. Hipótesis nula (H₀)

Las diferentes variedades de fréjol (*Phaseolus vulgaris L*) no poseen capacidad antioxidante.

1.4.2. Hipótesis alterna (H_a)

Las diferentes variedades de fréjol (*Phaseolus vulgaris L*) poseen capacidad antioxidante.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Fréjol común (*Phaseolus vulgaris* L.)

2.1.1. Origen del fréjol

El fréjol (*Phaseolus vulgaris* L.) es originario de América Latina, se mencionan dos centros de origen geográficos, Mesoamérica y los Andes. Hace aproximadamente 8.000 años en las localidades de México y América del Sur se lo domesticó de manera independiente (Tabango Méndez, 2021). Los fréjoles comunes (*Phaseolus vulgaris* L.) corresponden a la tercera leguminosa alimentaria más importante del mundo junto a la soja y el maní (Merga, 2020).

El fréjol es un cultivo tradicional que forma parte de la dieta básica alimenticia al ser una alta fuente de proteína de bajo costo. En América latina, dependiendo de su región el género (*Phaseolus vulgaris* L.) se ha identificado con distintos nombres fríjol, frisol, fréjol, frejol, habichuela, poroto, judía, caraota.

El género *Phaseolus*, tiene cerca del 90% del área cultivada en el mundo, considerada por su diversidad, los parientes silvestres de esta especie cultivada que abarca 80 especies de *Phaseolus* es una de las principales proteínas de origen vegetal y es cultivado en más de cien países (Zavala, 2021).

Figura 1

Fréjol naciendo.



Nota: La figura indica el fréjol naciendo. Tomado del Portal Frutícola, por (Arellano, 2020).

2.1.2. Generalidades del fréjol

Los fréjoles se encuentran en el grupo de las leguminosas y al ser ingerida como tal, también se la denominada vainita, chaucha, habichuela. Esta definición varía dependiendo de la región, ya que se caracterizan por ser uno de los alimentos con mayor contenido de proteínas de origen vegetal (Melara, 2022).

El género *Phaseolus* contiene cinco especies domesticadas; *Phaseolus vulgaris* L. (fréjol común), *Phaseolus lunatus* L. (fréjol lima), *Phaseolus acutifolius* A. (fréjol tépari), *Phaseolus coccineus* L. (Fréjol ayacote) y *Phaseolus dumosus* L. (fréjol de año o gordo) (Tabango Méndez, 2021).

El fréjol común, es un cultivo económico que se han domesticado en las Américas durante más de 8,000 años y se han convertido en un alimento básico en todo el mundo porque es una rica fuente de proteínas y micronutrientes (Zhang et al., 2023). Puede crecer en diferentes condiciones de suelo y climáticas, por lo que hay muchas variedades con diferentes tiempos de maduración y con una gran variedad de tamaño, forma y color de la semilla (Fuentes et al., 2023).

2.1.3. Taxonomía del fréjol

Taxonómicamente, el fréjol corresponde a la especie más conocida del género *Phaseolus*. Esto se refiere a las diferentes especies, como su clasificación, cultivares y mezclas del género (Revisar tabla 1). El fitomejoramiento que implica el uso de parientes silvestres se ha dirigido casi por completo al mejoramiento del fréjol común, la especie más cultivada, y las contribuciones exitosas provienen principalmente de su progenitor (*Phaseolus vulgaris* L.) (Dohle et al., 2019).

Es una planta herbácea que presenta su legumbre en diversos tamaños y colores que pertenecen a la familia de las fabaceae, con unas cincuenta especies, en sus tallos son delgados y débiles, de formas cuadrangulares, a veces rayados de púrpura, las hojas son trifoliadas que terminan en forma de una punta corta, laterales más o menos tubulosos y estandarte redondeado usualmente axilares, más cortos que las hojas, las flores pueden ser solitarias o agruparse en racimos o a su vez en glomérulos . Esta especie puede alcanzar una altura de 50 a 70 cm y sus raíces se desarrollan con una raíz principal la cual crece verticalmente hacia abajo y muchas ramificaciones (Rodríguez et al., 2021).

Tabla 1*Taxonomía del fréjol*

Fréjol (<i>Phaseolus vulgaris L.</i>)	
Nombre científico	<i>Phaseolus vulgaris L.</i>
Reino, subreino	Plantae, Tracheobionta
División, Subdivisión	Espermatophyta, Magnoliophyta
Subdivisión	Magnoliophyta
Clase, Subclase	Magnoliopsida, Rosidae
Orden	Fabales
Familia, Subfamilia	Fabaceae, Faboideae
Tribu	Faseoleas
Género	<i>Phaseolus</i>
Especie	<i>Vulgaris</i>

Nota: Descripción de la taxonomía del fréjol. Tomado del repositorio institucional de la Universidad Técnica de Ambato, por (Curay Palate, 2019).

2.1.4. Morfología del fréjol

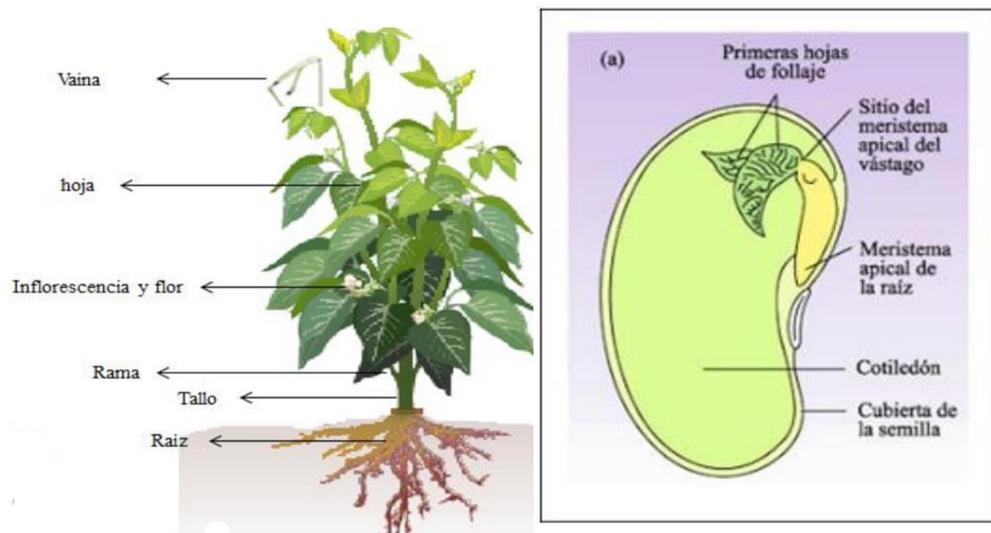
La morfología del tallo de fréjol tiene la capacidad de seguir desarrollándose después de la floración y es por esto que la altura de sus tallos en la cosecha tiende a variar en pocos centímetros más de crecimiento, el tallo soporta las hojas, las flores y finalmente las vainas (Curay Palate, 2019).

La planta de fréjol (*Phaseolus vulgaris L.*) se caracteriza por su hábito de crecimiento voluble, sus hojas son alternas, compuestas y trifoliadas, de color verde intenso. Sus flores son cigomorfas, de color blanco y morado, nacen en racimos de 3 a 8 flores, son hermafroditas y se autofecundan. Posee una raíz pivotante y pelos absorbentes. Las vainas son largas, distribuidas a lo largo del tallo, con tamaño y número de granos homogéneo; las semillas son de color rojo con motas crema y llegan a medir 2 cm de largo (Carmona, 2023).

El fréjol es una planta anual, es decir, que completa su ciclo biológico en el período de 1 año y cuenta con muchas variedades, también presenta tallos que pueden tener una longitud de hasta cuatro metros, con hojas de gran tamaño, flores de tonalidad blanquecina y frutos en vainas que contienen varias semillas (Porto, 2021).

Figura 2

Morfología del fréjol



Nota: Se presenta la planta y el grano del fréjol con sus respectivas partes, por (Romero, 2017).

2.1.5. Valor nutricional del fréjol

En el grupo de las leguminosas, el fréjol es una de las más importantes a nivel mundial, al saber que, en América, este alimento constituye la segunda fuente de proteína vegetal.

Los fréjoles se han caracterizado como un alimento casi completo, debido a su alto contenido de proteínas, fibra, prebióticos, vitamina B, y químicamente diversos micronutrientes. También son una fuente de compuestos polifenólicos con numerosas propiedades promotoras para la salud (Fuentes et al., 2023).

Como una de las leguminosas más importantes por sus componentes beneficiosos para la salud, dentro de sus características se destacan el valor nutritivo por su aportación de proteínas de 2-3 veces más proteínas que los cereales. Mencionando también su actividad antioxidante en la que Yeasmin, Prasad, & Sahu, (2024) nos indica en su investigación, en el caso del fréjol rojo que “las proteínas tienen una alta actividad antioxidante, teniendo en cuenta el buen perfil nutricional, en la que se podría utilizarse como materias primas potenciales para la extracción de proteínas de calidad”. En la cual su combinación potencializa el valor nutritivo de la proteína, y su alto contenido de fitoquímicos únicos, micronutrientes como el hierro y el ácido fólico.

Cabe también mencionar que según Bedoya & Maldonado (2021) “Dependiendo de la buena nutrición de los suelos será la absorción de nutrientes por etapa fenológica, embriológica y por órgano de la planta, en el cultivo de fréjol, la movilización de asimilados hacia el grano es muy intensa en los últimos días del ciclo del cultivo”.

2.1.6. Composición del fréjol

Los fréjoles tienen una alta calidad nutricional, lo que representa una valiosa fuente de proteínas, fibra, vitaminas y nutrientes minerales, incluidos niveles relativamente altos de hierro y zinc en las semillas (Huertas et al., 2022).

No obstante, la variación del contenido de estos minerales se puede ver influenciado por las condiciones físicas y químicas del suelo, manejo de postcosecha y métodos de preparación para el consumo, además influye también el clima y otros factores externos. Por lo tanto, Adegboyega et al., (2019) nos indica que las semillas de fréjol están compuestas por “Grasa, contenido de humedad, proteína cruda, ceniza y carbohidratos y el nivel de antinutrientes (tanino y fitato)”. También incluyen compuestos fenólicos, tocoferoles, ácidos grasos insaturados, péptidos y entre otros constituyente, asociados a las actividades biológicas, incluyendo efectos antioxidantes.

La composición química tiene un fuerte efecto sobre las propiedades nutricionales de los fréjoles. Los carbohidratos son los nutrientes más abundantes en los fréjoles (63–66%), seguidos de las proteínas (21–24%), la fibra cruda (5–7%), la ceniza cruda (4–5%) y grasa cruda (2–3%) (Anino et al., 2019). Los fréjoles también son ricos en fitoquímicos no nutritivos, los cuales pueden ejercer efectos beneficiosos para la salud en forma directa, principalmente en el tubo digestivo. Además, las proteínas constituyentes y carbohidratos son de calidad relativamente alta que proporciona una nutrición adecuada a la dieta. Como en el caso de muchas verduras, los azúcares están asociados con el aroma y el sabor.

De tal manera que Kajiwara, Moda Cirino, & dos Santos Escolz, (2021) indica que “Los principales azúcares libres en los fréjoles incluyen glucosa, fructosa y sacarosa, también otros azúcares, como la rafinosa y la estaquiosa, pueden tener efectos digestivos indeseables que restringen el consumo de fréjoles”.

Tabla 2*Componentes nutritivos del fréjol*

Componentes	Fréjol Fresco %	Fréjol cocido %
Proteína	18,06	18,02
Fibra	8,25	3,10
Grasa	2,7	0,68
Minerales	5,01	4,73

Nota: Se muestra los componentes nutritivos del fréjol fresco y del fréjol cocido en porcentajes. Tomado del material de investigación de *MedCrave* por (Urias Saucedo et al., 2019).

El fréjol ha sido de interés para muchas investigaciones en temas como la composición química, análisis proximal, calidad física, nutricional y antinutricional. De forma general, la proteína en rangos de 16 a 27 %, fibra de 3 a 7 %, de extracto etéreo de 3 a 7 % y de cenizas de 4 a 6 %. (Mencía Guevara et al., 2020). La semilla del fréjol es rica fuente de proteína dietética con globulinas (65% p/p), albúminas (15% p/p), glutelinas (10% p/p), y prolaminas (2% p/p) siendo los componentes proteicos (Sarker, Chakraborty, & Roy, 2020)

2.1.7. Variedades de fréjol

Los fréjoles son plantas anuales cultivadas en climas templados o a su vez en climas subtropicales, existe una amplia gama de especies de fréjol, por su variedad en su composición química y de igual manera en sus características físicas, como el tamaño, color, dureza. El cultivo de fréjol es una parte importante de la economía agrícola, y hay aproximadamente 70 variedades de fréjol nativo, que se distribuyen en siete grupos principales: negro, amarillo, blanco, púrpura, crema, pinto y moteado. Sus semillas son la base de los alimentos para muchos países debido a sus propiedades nutricionales y bajo costo, así como la posibilidad de almacenamiento a largo plazo (Corzo Ríos et al., 2020).

Los fréjoles mesoamericanos y andinos difieren en tamaño y color de la capa de semilla. Los fréjoles mesoamericanos tienen pequeñas cortezas de semillas de color blanco, beige, negro, marrón, morado, amarillo y rojo o incluso multicolores. Los fréjoles andinos tienen un gran tamaño y una gran diversidad de colores de capas

de semillas, incluyendo blanco, rojo, crema y amarillo, con o sin la presencia de rayas o manchas de otros colores (Kajiwara et al., 2021).

2.1.7.1. Fréjol Marrón

Los fréjoles marrones son un tipo de fréjol común, estas leguminosas tienen de igual manera una forma de riñón y son de color marrón claro, son uno de los tipos de fréjoles más utilizados en Latinoamérica, cabe recalcar que son las variedades preferidas, debido a sus supuestas propiedades sensoriales como el ablandamiento, el buen sabor y el aroma en la cocción, especialmente el marrón claro grande (ver figura 3).

El contenido de potencialmente compuestos bioactivos, son muy nutritivos y sanos, ya que aportan gran contenido de fibra, proteínas y vitaminas. Aunque varían considerablemente según el grano genotipos y factores ambientales, así como las condiciones de procesamiento y almacenamiento. Los fréjoles comunes y las legumbres son una de las principales fuentes de proteína vegetal en todo el mundo y contienen fitoquímicos con diversas actividades biológicas, incluyendo antioxidante (Nina et al., 2023).

Figura 3

Fréjol Marrón



Nota: Se muestra el fréjol marrón. Tomada en las instalaciones del laboratorio de investigación de la Universidad Estatal de Bolívar.

2.1.7.2. Fréjol Negro

Esta opción de fréjol con forma de riñón es de coloración oscura, sabor dulce, con una pequeña mancha blanca. Es una de las leguminosas preferidas por los países de América Latina y África, tienen un elevado contenido de molibdeno y ácido fólico, también es una buena fuente de hierro, tiamina, vitaminas que reducen los niveles de homocisteína sérica.

Por lo que es considerado una de las principales fuentes de minerales y además de carbohidratos saludables que aportan energía al organismo, aunque su aporte calórico es relativamente bajo. Es una buena razón por la que su consumo puede reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares ya que previene enfermedades neurodegenerativas (Melini et al., 2023).

De igual manera en la investigación de Mojica et al., (2024) mencionan que las proteínas de los fréjoles negros (*Phaseolus vulgaris L.*) como fuente de péptidos bioactivos, los cuales presentan características importantes como alto potencial biológico, baja toxicidad, bajo o nulo alergenicidad, alta diversidad estructural y tamaño pequeño (en relación con los anticuerpos). Las capas de semillas de fréjol negro podrían ser una fuente eficiente de compuestos bioactivos que se pueden agregar a los alimentos con el fin de ejercer beneficios para la salud.

Figura 4

Fréjol negro



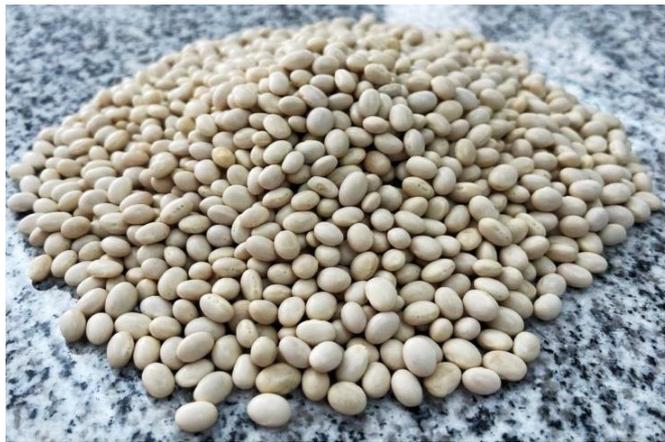
Nota: Se muestra el fréjol negro. Tomada en las instalaciones del laboratorio de investigación de la Universidad Estatal de Bolívar.

2.1.7.3. Fréjol Panamito

El panamito también conocido como fréjol blanco, en Ecuador es uno de los más populares por su consumo, es un alimento desinflamante, destacando su contenido de antioxidantes, tiene un contenido bajo de grasa y su cantidad de colesterol es menor en relación con otros tipos, por tratarse de un alimento de origen vegetal.

Figura 5

Fréjol Panamito



Nota: Se muestra el fréjol panamito. Tomada en las instalaciones del laboratorio de investigación de la Universidad Estatal de Bolívar.

El fréjol blanco (*Phaseolus vulgaris L.*) la leguminosa más consumida en el mundo como una excelente fuente de proteínas, fibra dietética, fitoquímicos y polisacáridos, demostrando otros biocomponentes tienen varios beneficios para la salud, como la hipoglucemia y efectos hipolipidémicos y la reparación de la función intestinal. recientemente su atención ha sido atraída por sus ingredientes funcionales y generalizada que podría exhibir efectos beneficiosos sobre una dieta alta en grasas inducida por esteatosis hepática a través de la orientación de la microbiota intestinal y sus metabolitos.

Los estudios previos sobre la actividad biológica de los fréjoles blancos se han centrado principalmente en sus componentes o extractos individuales. Además, la mayoría de los componentes funcionales en los fréjoles blancos enteros son indigeribles y/o no absorbibles, evitando así la digestión del tracto gastrointestinal superior (Feng et al., 2023).

2.1.7.4. Fréjol UEB-Bombolín

Se le denomina UEB-Bombolín es un miembro de la familia *Fabaceae*, la cual es una nueva variedad de fréjol voluble que certificó el Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca (MAGAP), a través de la Dirección Provincial de Bolívar. Su semilla es de color rojo brillante, pequeña; desarrollada por técnicos de la Universidad Estatal de Bolívar, proviene de un proceso de selección en los campos de productores de los cantones Guaranda, San Miguel y Chillanes. “En estos suelos la materia orgánica cumple un papel preponderante en las propiedades físicas para generar suelos bien estructurados y estables, esta materia orgánica aporta mucho nitrógeno (N), fósforo (P) y azufre (S) de carácter orgánico” (Bedoya & Maldonado, 2021).

Según la investigación de Yeasmin, Prasad, & Sahu, (2024) Se considera una fuente de proteínas notable (20–40%). La composición de aminoácidos de los fréjoles rojos se caracteriza por la presencia de aminoácidos esenciales que incluyen ácido aspártico, arginina, ácido glutámico, leucina y lisina. Esta variedad es resistente a las principales enfermedades foliares como la roya, mancha angular, entre otras. Para la nueva variedad de fréjol rojo, mediante el artículo de Tang et al., (2023) destacan que es una leguminosa de la cual se podría usarse para desarrollar una nueva alternativa de leche a base de plantas debido a su alto contenido de proteínas y diversos beneficios para la salud.

Figura 6

Fréjol UEB-Bombolín



Nota: Se muestra el fréjol UEB-Bombolín. Tomada en las instalaciones del laboratorio de investigación de la Universidad Estatal de Bolívar.

2.1.8. Características nutricionales

2.1.8.1. Proteínas

La mayoría de las proteínas desempeñan sus funciones en entornos celulares abarrotados y complejos, donde las proteínas están rodeadas por numerosas moléculas biológicas (Xu, Cheng, Liu, & Conggang, 2024). De tal manera que Gómez & Quesada, (2019) nos explica que “Las proteínas son las macromoléculas orgánicas más abundantes en las células vivas, y en el ser humano, se desempeñan como componentes estructurales, enzimas, hormonas, mensajeros, transportadores y componentes del sistema inmune”.

En cuanto a las proteínas de las leguminosas contienen péptidos bioactivos con propiedades beneficiosas para la salud, de modo que las semillas de fréjol contienen alta proteína dietética debido a su contenido de aminoácidos, biodisponibilidad sustancial de proteínas y bajos niveles de factores antinutricionales (Adegboyega et al., 2019).

Tal como nos indica Gómez & Quesada, (2019) Las proteínas “Están construidas a partir un mismo conjunto de 20 aminoácidos, los cuales nos indica que nueve de ellas no pueden ser sintetizados en el organismo, por lo que se les considera aminoácidos esenciales”.

Cabe destacar que las proteínas de las leguminosas son una fuente importante de proteína vegetal que contienen péptidos bioactivos con propiedades beneficiosas para la salud, aun cuando no contiene todos los aminoácidos esenciales para el humano, se lo puede complementar con granos lo cual nos brinda una proteína completa de calidad similar a la presente en los productos de origen animal, pero sin el aporte de grasa saturada y colesterol. Al aumentar la ingesta de proteínas se ha sugerido mejorar las ganancias en masa muscular y fuerza en adultos (Wirth, Hillesheim, & Brennan, 2020).

En general las proteínas de origen vegetal se utilizan como estabilizadores de emulsión en la industria alimentaria debido a su considerable actividad superficial, biodegradabilidad y excelente valor nutricional. Las proteínas de las leguminosas son uno de los tipos de proteínas vegetales más utilizados, altamente utilizadas en el cuerpo y pueden ser una excelente alternativa a la proteína animal (Lin et al., 2024).

2.1.8.2. Fibra

Históricamente, se la definió simplemente como fibra celulósica o fibra alimentaria, sin embargo, es mucho más complejo. Se sabe desde hace tiempo que los alimentos que contienen fibra natural, como frutas, verduras, legumbres y granos integrales, brindan beneficios para la salud que pueden atribuirse a la fibra dietética, la amplia gama de nutrientes y fitoquímicos que se encuentran en estos alimentos (McKeown et al., 2022).

El consumo de fibras de leguminosas está asociado por sus beneficios para la salud del sistema cardiovascular, al tiempo que reduce los niveles de colesterol, glucosa en la sangre y mejora el movimiento de los alimentos a través del sistema cardiovascular tracto digestivo (Tiwari & Cummins, 2021).

Como lo indica Didinger et al., (2022) “Son beneficiosas para la salud humana debido a sus mayores propiedades funcionales, fisicoquímicas y fisiológicas. Se ha informado que el consumo de fréjol seco y otras legumbres reduce el riesgo de enfermedades crónicas, presumiblemente en parte a su contenido de fibra dietética”.

De tal manera que la fibra dietética consiste en formas no digeribles de carbohidratos, generalmente como polisacáridos que se originan en alimentos de origen vegetal. La optimización de la fibra dentro de nuestras dietas representa una importante estrategia de salud pública para mejorar tanto la salud metabólica como la general (Barder., 2020).

Los fréjoles (*Phaseolus vulgaris* L.), son una fuente rica de proteína dietética y contienen cantidades aproximadamente iguales con la fibra dietética (Ladrillo et al., 2022). Como se resume en Didinger & Thompson, (2021) El contenido por porción comestible de la proteína dietética en el fréjol seco sobre una base de 100 kcal, lo cual hace que su contenido sea similar. La fibra dietética (DF) que se encuentra en el fréjol se clasifica en tres fracciones, soluble (SDF), insoluble (IDF) y oligosacáridos (OLIGO), La fibra dietética insoluble constituyó la porción más alta con (54.0%), seguida de SDF (29.1%) y por último OLIGO con (16.8%) (Ladrillo et al., 2022). La proporción de fibras solubles e insolubles influyen en las propiedades fisicoquímicas, que se utilizan para modificar la consistencia, textura y las características sensoriales en los productos finales.

2.1.8.3. Grasa

Las legumbres son ricas en ácidos grasos insaturados, lo que las hace susceptibles a oxidaciones enzimáticas (no) que conducen a la formación de olores indeseables (Khrisanapant et al., 2019). Sin embargo, a pesar de sus beneficios para la salud, se sabe que los ácidos grasos insaturados son más susceptibles a la oxidación que los ácidos grasos saturados, debido a la presencia de uno o más enlaces dobles.

El contenido nutricional y biológico de las leguminosas, se las puede considerar indispensables dentro de las dietas saludables, en especial por su alto contenido en proteínas y bajo aporte en grasa (Simbaña Simba, 2022).

Los fréjoles y las legumbres son ricas en proteína vegetal, fibra, vitaminas del grupo B, ácido fólico, calcio, potasio, fósforo y zinc. Son similares a la carne en nutrientes, pero con menores niveles de hierro y sin grasas animales, la mayoría de los fréjoles también tienen pocas grasas. Como lo indica (Dumas Verduga, 2022) “El fréjol naturalmente tiene un bajo porcentaje de grasa, este parámetro depende de la variedad, temporada de cosecha, sitio de producción, clima y demás factores”.

2.1.8.4. Minerales

Los minerales son muy importantes en el organismo ya que participan en la regulación de los procesos corporales, ya que son elementos clave en el cuerpo y se requieren por acumulación, es decir, aunque no son una fuente de energía nuestro organismo los almacena para su posterior uso en los procesos metabólicos o fisiológicos. Las legumbres son consideradas una gran fuente de minerales, principalmente de calcio, hierro, zinc, magnesio, fósforo y potasio. Son elementos inorgánicos esenciales para el correcto funcionamiento de las funciones estructurales y reguladoras de cada uno de los procesos del organismo (Simbaña Simba, 2022). Las necesidades diarias de los micronutrientes, los minerales tanto como las vitaminas, son necesarias para numerosos procesos internos, varían en función del metabolismo, la edad o el sexo de cada persona, aunque sí existen cantidades mínimas requeridas que el organismo necesita de cada uno de ellos en condiciones de salud estables. Todos los minerales son necesarios para diferentes procesos internos, su presencia es importante, aunque sea en cantidades mínimas (Nieto, 2021).

El contenido de minerales en el fréjol varía en función del material genético, manejo del cultivo y condiciones de almacenamiento, en esta especie se encuentra hierro, potasio, magnesio y zinc en cantidades significativas, lo que le permite ser utilizado como alternativa en sustitución de carnes y otros productos proteicos (Dumas Verduga, 2022).

2.1.8.5. Cenizas

El contenido de cenizas en el fréjol seco indica una cantidad total de minerales, materia seca orgánica y micro elementos mayor al comprarlo con el fréjol verde, los cuales se van concentrando en la semilla a medida que va llegando a la etapa final de madurez fisiológica (Bedoya & Maldonado, 2021).

2.1.8.6. Carbohidratos

Conocidos también como hidratos de carbono, son unas biomoléculas formadas por tres elementos fundamentales: el carbono, el hidrógeno y el oxígeno, representan una parte de la alimentación humana, y es posible encontrarlos en alimentos comunes. Según Angulo, (2023) “Su función más relevante es la de contribuir en la obtención y almacenamiento de energía, que requiere el organismo, ya que la enzima amilasa, que trabaja en la descomposición de esta molécula en glucosa, para usarla como energía para las células, órganos y tejidos”.

Son óptimos para población diabética, y es una fuente de hierro, importante en la prevención y control de la anemia. Los carbohidratos constituyen la fracción principal en los granos de las leguminosas, del 50 al 70 % del peso seco en promedio corresponde a este macronutriente, se encuentran en mayor proporción en el fréjol común a diferencia de las demás leguminosas, por consiguiente, el consumo de fréjol aporta energía de reserva (Dumas Verduga, 2022).

Las legumbres, son una fuente excelente y económica de proteínas, carbohidratos, fibra, mineral además del bajo contenido de grasa. De acuerdo con Bedoya & Maldonado, (2022) “Los carbohidratos que contienen los fréjoles es de clasificación compleja, de modo que ayudan a regular los niveles de azúcar en la sangre, debido a su lenta digestión y bajo índice glicémico, ya que son absorbidos por nuestro organismo, por esta razón se adhiere al colesterol malo e impide que este llegue a

la sangre y sea absorbido, por lo que reducen el colesterol ya que contiene también fibra”.

2.1.8.7. Lípidos

Los lípidos son un grupo de moléculas biológicas, formado principalmente por carbono, oxígeno e hidrógeno, en algunos casos azufre, fósforo y nitrógeno. En cuanto a su propósito en el cuerpo humano, son de crucial importancia para el almacenamiento de energía y el desarrollo de la membrana celular. Sin embargo, también hay que destacar que si los niveles de lípidos son muy altos pueden acumularse en las paredes de las arterias hasta formar una placa que puede obstruir el paso de la sangre (Retana, 2019).

El contenido total de lípidos podría cambiar dependiendo de la variedad, localización, clima, condiciones ambientales y el tipo de tierra en la cual crece. De tal forma que los lípidos de los fréjoles, tienen una variedad de ácidos grasos y contienen cantidades sustanciales de ácidos grasos esenciales, se caracterizan por ser insolubles en agua y muy solubles en compuestos orgánicos y son una gran fuente de energía debido al número de enlaces (Simbaña Simba, 2022).

2.1.8.8. Vitaminas

Las vitaminas son sustancias orgánicas complejas, biológicamente activas y con diversa estructura molecular son nutrientes esenciales deben obtenerse de los alimentos para mantener la función fisiológica normal, desempeñan un papel importante en el proceso de crecimiento humano, metabolismo y desarrollo para contribuir una vida saludable.

Además, la vitamina tiene un fuerte efecto antioxidante, que puede eliminar los radicales libres de oxígeno. Cabe recalcar que las vitaminas no están involucradas en la composición de las células, ni proporcionan energía para el cuerpo, pero pueden participar en la función metabólica. Como lo indica Johnson, (2022) La mayoría de las vitaminas, con excepción de la D, K, B1, B2 y el ácido fólico, no son sintetizadas por el organismo, y si lo hacen, las cantidades son insuficientes; por lo tanto, es necesario su aporte externo.

Las vitaminas A, B12 y D se almacenan en cantidades importantes, sobre todo en el hígado, también se almacenan en las células adiposas excepto la vitamina B12. En el caso de los fréjoles y las legumbres son ricas en proteína vegetal, fibra, vitaminas del grupo B, hierro, ácido fólico, calcio, potasio, fósforo y zinc (Manetti, 2022). La ingesta insuficiente de vitaminas conducirá a un desequilibrio metabólico, disminución de la inmunidad, desnutrición y la susceptibilidad a diversas enfermedades, de igual manera si hay una suplementación excesiva podrían aumentar el riesgo de enfermedades (Xia, Chen, & Chen, 2024).

2.1.8.9. Tiamina

La tiamina, conocida también como la vitamina B1, está presente en numerosos alimentos, tanto de origen vegetal como animal, es un micronutriente esencial que el organismo requiere para realizar correctamente las funciones vitales.

Es importante para el crecimiento, desarrollo y funcionamiento de las células del organismo. De manera que, en la redacción de Báez, (2022) nos indica que la vitamina es soluble en agua, esto implica que se absorbe con rapidez, sin embargo, en poco tiempo también se elimina a través de la orina, de ahí la importancia de ingerirla a diario en cantidades suficientes.

Cabe destacar que nuestro cuerpo no la produce, por ello, la obtenemos mediante una dieta variada y equilibrada, la tiamina. La vitamina B1 ayuda a las células del organismo a convertir carbohidratos en energía. El papel principal de los carbohidratos es suministrar energía al cuerpo, especialmente al cerebro y al sistema nervioso. La tiamina también juega un papel en la contracción muscular y la conducción de las señales nerviosas (Dugdale, 2023).

2.1.8.10. Riboflavina

La riboflavina, es decir, vitamina B2, son coenzimas importantes en el metabolismo energético, el cuerpo mantiene una pequeña reserva de estas vitaminas y desempeña un papel crucial en el mantenimiento de la salud del organismo, ayuda en la producción de glóbulos rojos y en la liberación de energía de las proteínas. Es el único precursor para generar coenzimas biológicas flavina adenina dinucleótido

(FAD) y flavina mononucleótido (FMN), que participan en numerosas reacciones enzimáticas y desempeñan funciones metabólicas (Zhou et al., 2021).

Las vitaminas B deben consumirse para prevenir deficiencias, participa en los procesos de respiración celular y en el desarrollo embrionario y en la formación de anticuerpos y glóbulos rojos, también ayudan a una buena salud ocular e interviene en la liberación de la energía contenida en los hidratos de carbono, grasas y proteínas (Monge, 2023). Es hidrosoluble, lo cual significa que no es sintetizada por el cuerpo humano y su almacenamiento es limitado, deben ser ingeridas regularmente para conservar esta reserva.

2.1.8.11. Niacina

La niacina (vitamina B3) tiene propiedades antiinflamatorias, antioxidantes y antitrombóticas, puede mantener la disfunción oxidativa mitocondrial. Se cree que los efectos protectores de la niacina contra el estrés oxidativo operan a través de dos mecanismos; Interviene en el metabolismo de los hidratos de carbono, grasas y proteínas (Ganjani et al., 2024).

Tiene propiedades protectoras contra el estrés oxidativo y puede tener potencial como un compuesto clínicamente relevante para la mitigación del daño tisular testicular resultante de la torsión testicular, presenta funciones relacionadas con el sistema nervioso, aparato digestivo y piel (Monge, 2023).

2.1.8.12. Aminoácidos

Los aminoácidos esenciales son importantes para el cuerpo, son los componentes básicos de la vida.; ya que, cumplen funciones relacionadas con la creación de proteínas; así como la creación y mantenimiento del tejido muscular y cerebral. Los aminoácidos considerados esenciales son: isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano y valina (Berlangua, 2020). Respecto a los aminoácidos estos se caracterizan por niveles bajos de metionina y cisteína, pero elevados de lisina (Quintero et al., 2022). La deficiencia de aminoácidos es debido a una dieta desequilibrada e inadecuada en proteínas. De tal manera, Yates et al., (2023) nos menciona que “Nueve de los veinte aminoácidos comunes deben

consumirse de los alimentos, ya que no se crean dentro del cuerpo”. Son las moléculas más abundantes y tienen una gran diversidad en sus funciones, puesto que forman parte de enzimas, hormonas, neurotransmisores. La capacidad del organismo para sintetizar nuevas proteínas depende fundamentalmente por la composición y la disponibilidad de los aminoácidos esenciales (Quesada & Gómez, 2019). La secuencia de aminoácidos y la longitud de la cadena son algunos de los principales y más importantes parámetros que influyen en la hidrólisis de proteínas durante los tratamientos enzimáticos (Mojica et al., 2024).

2.1.9. Actividad biológica

2.1.9.1. Fenoles

De acuerdo con Almeida da Silva et al., (2024) Son compuestos orgánicos aromáticos que contienen el grupo hidroxilo, se pueden encontrar células vegetales en formas solubles e insolubles, si bien la forma soluble generalmente se encuentra dentro de las vacuolas de las células vegetales, la contraparte unida a la insoluble se encuentra en la pared celular y se une covalentemente a las macromoléculas como los (carbohidratos y proteínas estructurales).

En el caso de mencionar el fenol, un producto químico intermedio tóxico que es un subproducto común de muchas aplicaciones industriales, que también se encuentran en algunas plantas y aceites esenciales estos también se encuentran ampliamente en las aguas residuales de muchas industrias, es decir, las industrias farmacéuticas, de conversión de carbón, química (Shimshoni et al., 2024).

Además, *P. vulgaris L.* contiene una variedad de compuestos fenólicos, estos compuestos también sirven como los principales antioxidantes en las legumbres que juegan un papel clave en la reducción de las especies reactivas de oxígeno que causan daños celulares y moleculares Sarker, Chakraborty, & Roy (2020). En el caso de los compuestos fenólicos pueden inhibir la acción y producción de mediadores proinflamatorios, lo que resulta en su capacidad antiinflamatoria (Fonseca Hernández et al., 2023).

2.1.9.2. Polifenoles

Son compuestos orgánicos que se encuentran abundantemente en casi todas las plantas, con una estructura química que incluye al menos un anillo aromático con varios sustituyentes y grupos hidroxilo, generalmente categorizados como flavonoides, ácidos fenólicos, taninos y lignanos, se han convertido en un campo emergente de interés en la nutrición en las últimas décadas (Yang et al., 2024). El consumo de polifenoles puede desempeñar un papel bioactivo en la salud a través de la regulación del metabolismo, el peso, las enfermedades crónicas y la proliferación celular.

Además, como lo indican en la investigación de Sarker, Chakraborty, & Roy, (2020) “Son los antioxidantes de mayor consumo en la dieta por su presencia en diferentes alimentos, los polifenoles pueden exhibir un efecto sinérgico con los péptidos que tienen actividad antioxidante, y tienen múltiples beneficios para el cuerpo humano”. El principal interés de los polifenoles está relacionado por sus notables propiedades antiinflamatorias que se asocian a posibles efectos protectores frente a la actividad anticancerígena o agentes neuroprotectores en trastornos neurodegenerativos progresivos (Rodríguez Madrina & Suárez Valles, 2020). Según Montoya, (2023) “La concentración de polifenoles alimentarios en el tracto digestivo es alta, ejerciendo una actividad local que impide oxidación de otros nutrientes, ayudan a la función endotelial, que es el revestimiento interno de los vasos sanguíneos, mejora la circulación sanguínea”.

2.1.9.3. Flavonoides

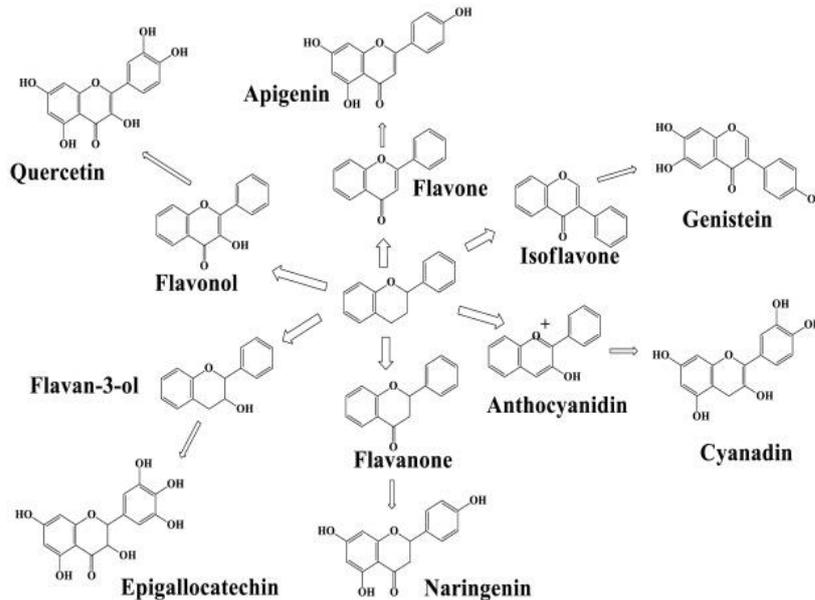
Los flavonoides son un grupo de componentes dietéticos que se encuentran exclusivamente en alimentos vegetales polifenólicos que han generado gran interés, estos exhiben muchas acciones *in vitro* e *in vivo*, incluyendo actividad antioxidante, antiinflamatoria, antineoplásica y antimicrobiana (Rhonda S. et al., 2021).

La palabra latina flavus, que significa "amarillo", es la fuente de la frase "flavonoides" o "bioflavonoides", que se encuentran en grandes cantidades en las plantas. Los flavonoides tienen una estructura química básica de C6 – C3 – C6, que consta de dos anillos aromáticos unidos por un puente de tres carbonos (Tizazú & Bekele, 2024).

Los flavonoides tienen seis clases cada una con su estructura química, indicadas en la figura 7, estos son flavanonas, flavonoles, flavonas, isoflavonas, flavan-3-oles y antocianidinas.

Figura 7

Clases de flavonoides



Nota: Se indican las clases de Flavonoides y sus estructuras químicas. Tomada de *Science Direct*, por (Tizazú & Bekele, 2024).

2.1.9.4. Antocianinas

Las antocianinas son responsables de dar colores a muchas frutas, verduras y flores, son los principales pigmentos que producen el color púrpura/azul/rojo en las hojas, flores y frutos de las plantas, confiriendo una enorme diversidad fenotípica. Además, se producen comúnmente en las plantas para hacer frente a condiciones ambientales adversas (como luz intensa, sequía y deficiencia de nutrientes) (Sainan et al., 2022).

Son una clase de compuestos flavonoides solubles en agua, colorantes y no tóxicos a través de una serie de reacciones enzimáticas, también en su expresión de genes relacionados con su vía metabólica (Rodríguez Mena et al., 2023).

Estos compuestos son poderosos antioxidantes que ayudan a neutralizar los radicales libres, al proteger a las células y tejidos reduciendo el estrés oxidativo en el cuerpo, estos compuestos tienen una amplia gama de beneficios para la salud

humana pueden contribuir a la prevención del envejecimiento prematuro y reducir el riesgo de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo en el cuerpo (Chu et al., 2023).

Las antocianinas son pigmentos vegetales de gran importancia, el color de los granos negros es causado principalmente por la composición y cantidad de antocianinas, que son la razón principal de su valor nutricional (Ma et al., 2023). Están presentes en legumbres como fréjoles negros, fréjoles rojos, y pintos; estas moléculas han demostrado aumentar la expresión de enzimas antioxidantes (Ramos Lalaleo, 2019). Cabe recalcar que la cáscara del fréjol negro contiene una variedad de antocianinas y otras sustancias que ejercen efectos protectores contra la obesidad, inflamación, diabetes y cáncer (Mubai et al., 2023).

2.1.9.5. Antioxidantes

Los antioxidantes juegan un papel crucial en la salud humana, ya que son capaces de inhibir o retrasar la oxidación de otras moléculas, las reacciones de oxidación pueden producir radicales que comienzan reacciones en cadena que dañan las células, su consumo en la dieta es importante, ya que estos son capaces de neutralizar radicales libres, el organismo tiene un complejo de mecanismo de defensa contra los agentes oxidantes que se producen naturalmente en el metabolismo.

Es decir, como lo indica Ramos Lalaleo, (2019) Los antioxidantes tienen fuertes efectos protectores contra las principales enfermedades ya que está relacionado con la disminución de enfermedades degenerativas y cardiovasculares también con el riesgo de contraer diabetes y obesidad.

Un antioxidante reacciona químicamente con sus componentes naturales para modificar o suprimir la producción de especies oxidantes (Ramos Lalaleo, 2019). Los efectos antioxidantes se extienden a las proteínas relacionadas con la inflamación, reduciendo el estrés oxidativo inducido por la degradación de óxido nítrico. El estrés oxidativo se caracteriza por un desequilibrio entre la producción de antioxidantes y oxidantes en un organismo, lo que puede resultar en el desarrollo de diversas enfermedades (Fonseca Hernández et al., 2023).

La actividad antioxidante de las leguminosas ha aumentado su interés debido a que el consumo está relacionado con la disminución de contraer enfermedades cardiovasculares, diabetes, hipertensión y obesidad, los compuestos antioxidantes en el fréjol se encuentran principalmente en su forma ligada por enlaces éster a componentes estructurales de la pared celular como celulosa y lignina. Estos compuestos son potentes antioxidantes contra los radicales hidroxilos y peroxilo, además pueden sobrevivir a la digestión gastrointestinal y llegar al colon, donde pueden tener su efecto antioxidante (Rochín Medina et al., 2021).

2.1.10. Métodos para la determinación antioxidante

En la medición de los compuestos de interés con capacidad antioxidante, éstos reaccionan directamente con el radical, disminuyendo así la intensidad del color, Los radicales libres son especies químicas que poseen electrones desapareados, por lo que son muy reactivos y tienden a tomar electrones de moléculas estables con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica, estas muestras se realizan con los sobrenadantes por los métodos estandarizados colorimétricos (Mejía Reyes et al., 2021).

Los diversos compuestos cromógenos (ABTS, DPPH y FRAP) presentan una excelente estabilidad en ciertas condiciones, los métodos más aplicados son ABTS y DPPH. Aunque también muestran diferencias, cabe destacar que la capacidad antioxidante se ha convertido en una característica ampliamente demandada en los alimentos, por su determinación más rápida que permite ahorrar tiempo en comparación con otros métodos (Mejía Reyes et al., 2021).

Por esta razón son utilizados para determinar la capacidad de los compuestos fenólicos que contienen los frutos para captar los radicales libres generados, operando así en contra los efectos perjudiciales de los procesos de oxidación, que implican a especies reactivas de oxígeno.

2.1.10.1. ABTS

En el método ABTS se puede medir la actividad de compuestos de naturaleza hidrofílica y lipofílica. El radical ABTS tiene, además, la ventaja de que su espectro

presenta máximos de absorbancia a 414, 654, 754 y 815 nm en medio alcohólico. (Díaz Muñoz, 2021). Este método es el más indicado en cuanto a ensayos de compuestos coloreados, como el caso de las antocianinas, reduciendo posibilidades de interferencias de los compuestos coloreados (Ruiz Benitez, 2020).

2.1.10.2. FRAP

Con respecto al método FRAP, esta técnica óptica se utiliza para medir la difusión lateral bidimensional de moléculas en películas delgadas, como membranas, utilizando sondas marcadas fluorescentemente, también tiene aplicaciones en la unión a proteínas (Aherm, Rajagopal, & Taralyn, 2022).

2.1.10.3. DPPH

El DPPH es un radical libre que puede obtenerse directamente sin una preparación previa, mientras que el ABTS tiene que ser generado tras una reacción que puede ser química. En el caso del ABTS, es un método químico donde el radical ABTS se obtiene tras una reacción química en específico reacción de oxidación que puede ser con persulfato de potasio, dióxido de magnesio. Una de las ventajas de este método es capaz de medir compuestos tanto lipofílicos e hidrofílicos, además presenta un amplio espectro de absorbancia 414 nm, 654 nm, 754 nm y 815 nm en etanol (Díaz Muñoz, 2021).

Consiste en un método muy usado para determinar la actividad antioxidante de frutas (zumos), verduras, café, entre otros. Su fundamento se basa en la aceptación de un electrón o átomo de hidrógeno por la molécula.

En la solución DPPH al reaccionar con un sustrato antioxidante que puede donar un átomo de hidrógeno, el color violeta presente en la solución inicial se desvanece, pasando del color violeta a un color amarillo (reducción del radical libre por antioxidantes), siendo el amarillo un color indicador de las propiedades antioxidantes de las muestras analizadas de interés (Ruiz Benitez, 2020).

2.1.11. Aprovechamiento del fréjol en la Agroindustria.

El consumo de las leguminosas es una fuente natural de fibras, los efectos fisiológicos son atribuidos principalmente a la presencia de compuestos bioactivos, los cuales poseen propiedades anticarcinogénicas (Aguayo Rojas et al., 2022).

Las legumbres son una fuente esencial de aceites y proteínas, el fréjol se lo considera principalmente un cultivo huérfano, aunque es conocido por su alto potencial de rendimiento y valor nutricional en comparación con la soja (Adegboyega et al., 2019).

Los fréjoles comunes es una de las legumbres más económicas y disponibles en todo el mundo, se convierte en un alimento básico en los países en desarrollo como alternativa a proteína animal (Sarker, Chakraborty, & Roy, 2020). Debido a la importancia nutricional y socioeconómica del fréjol, su contenido rico nos brinda alternativas para promover el consumo de esta leguminosa por sus beneficios en la salud, mediante el desarrollo de diversos productos como: harinas, galletas, barras nutritivas, panqué.

En el caso de la barra nutritiva del fréjol, o una galleta que puede ser una mejor opción para su aprovechamiento en la Agroindustria, se elige la mejor variedad de fréjol que contenga un índice alto de actividad antioxidante debidamente estudiada para posteriormente elaborar el producto deseado.

Así mismo, también se ha presentado la sustitución del consumo del fréjol en grano por fréjol industrializado, debido a la facilidad que representa su uso con respecto al fréjol en grano. Se puede mencionar que en el caso del fréjol panamito, en los últimos años ha tenido aceptación en la industria, para elaborar leche de fréjol para exportar, se cultiva en Azuay, Loja y en Chimborazo, por su destacada cantidad de proteínas, vitaminas, minerales y fibra.

Por esa razón, disponer de productos alternativos a base de fréjol sería de gran beneficio, tanto para los productores de fréjol, pues les permitiría recobrar la confianza en la producción de granos como opción económica, como para los consumidores, que contarían con productos de gran valor nutritivo, lo que a la vez podría resultar en un aumento del consumo.

El valor nutritivo es un indicador de una contribución bien equilibrada de nutrientes esenciales (proteínas, carbohidratos, grasas, vitaminas y minerales) en función de los requerimientos de nutrientes de un individuo y, al mismo tiempo, depende de la cantidad de alimento/alimentación que se digiere y absorbe (Rodríguez Espinosa et al., 2024). La introducción del fréjol en la dieta es estimulada por sus beneficios para la salud, su consumo es recomendable debido a su alto contenido de fibra, minerales y no contiene colesterol (Azevedo Silva et al., 2021).

Para la población ecuatoriana el fréjol es la leguminosa con bastantes áreas de cultivo y consumo en conjunto con el maíz constituye parte de la dieta básica en gran parte por su contribución de proteínas y carbohidratos. Cabe destacar que es un alimento poco costoso para consumidores de bajos recursos, es una fuente de proteína muy importante en muchos de los países en desarrollo. Como lo indica la investigación de Tapia Yáñez et al., (2019) “Em Ecuador el consumo es de 2,6 kg/año, el cual es muy inferior al de otros países del área andina como Bolivia, que ocupa el primer lugar con 10 kg *per cápita* anual”. El aporte de proteínas, carbohidratos, hierro, fosforo, zinc y fibra es significativamente importante, por lo tanto constituye también un valioso componente en la soberanía y seguridad alimentaria del país.

Es bien sabido que las proteínas son nutrientes esenciales para el crecimiento, la reparación y el mantenimiento de los tejidos en el cuerpo, si existen problemas en el organismo para obtener la proteína suficiente a través de la alimentación regular ya sean por restricciones dietéticas, preferencias personales o necesidades específicas, como por ejemplo pueden ser atletas que requieran de una mayor ingesta proteica, los suplementos pueden ayudar a alcanzar los requerimientos deseados.

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Ubicación y características de la investigación

La investigación se llevó a cabo en el laboratorio de investigación de la Universidad Estatal de Bolívar, Laguacoto II (Guaranda Km 1 ½ Vía San Simón).

3.1.1. Zona de vida de la investigación.

La zona de vida de la localidad experimental se llevó a cabo en el laboratorio de investigación del sector Laguacoto, perteneciente a la parroquia de Gabriel Ignacio de Veintimilla del cantón de Guaranda, provincia de Bolívar.

3.1.2. Situación geográfica y edafoclimática

Los parámetros climáticos se detallan a continuación:

Tabla 3

Parámetros geográficos

Parámetros Climáticos	Valor
Altitud	2612 msnm
Latitud	01°36'40" sur
Longitud	78°59'50" oeste
Temperatura mínima	8 °C
Temperatura media anual	13 °C
Temperatura máxima	26,44 °C
Humedad	30%

Nota: Tomado de la Estación Meteorológica, Unidad Estatal de Bolívar, Laguacoto II (2021).

3.2. Materiales

3.2.1. Material experimental

- Fréjol marrón
- Fréjol negro
- Fréjol panamito
- Fréjol UEB-Bombolín

3.2.2. Material de oficina

- Libreta de apuntes
- Internet
- Computador portátil
- Bolígrafo
- Calculadora
- Cámara
- Impresora
- Marcador permanente
- Cinta adhesiva de papel

3.2.3. Material de campo

- Tubos Eppendorf de plástico de 2 mL
- Tubos Eppendorf de plástico de 1,5 mL
- Puntas estériles de 1000 ul
- Puntas estériles de 200 ul
- Puntas estériles de 10 ul

3.2.4. Material de bioseguridad

- Guantes
- Gel antibacterial
- Alcohol
- Mascarilla

3.2.5. Materiales de laboratorio

- Toallas de limpieza reutilizables
- Balón de aforo color de ámbar
- Bandeja de aluminio
- Probetas
- Recipientes plásticos

3.3. Equipos

Tabla 4

Equipos utilizados en la experimentación

Nombre	Marca	Código	Imagen
Molino	RETSCH	5860627	
Balanza analítica	OHAUS	20382941	
Medidor de pH	HANNA	8090106	
Espectrofotómetro	THERMO	20382919	
Centrifuga	SIGMA	20382910	
Vortex Mixer	FISHER SCIENTIFIC	8341308	

Nombre	Marca	Código	Imagen
Liofilizador	CHRIST	20382935	
Soxtest	RAYPA	8088670	
Cabina extractora de gases	FLORES VALLES	20382937	
Estufa	MEMMERT	0204448	
Mufla	THERMO	8088761	
Centrifuga	EPPENDORF	8089695	
Biobase	BIOCHEMISTRY INCUBATOR	21302281	

3.4. Reactivos

Tabla 5

Reactivos utilizados en la investigación

Reactivos	Fórmula	Concentración
Fosfato dibásico de sodio	Na_2HPO_4	99,0%
Fosfato monobásico de sodio	$Na_2H_2PO_4$	99,0%,
Trolox	$C_{14}H_{18}O_4$	97,0%
Persulfato de potasio	$K_2S_2O_8$	99%
ABTS (2,2'-Azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)	$C_{18}H_{24}N_6O_6S_4$	98,0%
Metanol	CH_3OH	99,8%
Etanol	C_2H_6O	99,8%
Acetonitrilo	C_2H_3N	99,0%
Cloruro de potasio	KCl	99,0%
Ácido clorhídrico	HCl	34,0%
Acetato de sodio trihidratado	$CH_3COONA * 3H_2O$	98,0%
TPTZ (2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine)	$C_{18}H_{12}N_6$	98,0%
Hierro (III) cloruro hexahidrato	$FeClFeCl_3 * 6H_2O$	99,0%
DPPH, Free Radical	$C_{18}H_{12}N_5O_6$	90,0%
Folin-Ciocalteu	$C_{10}H_5NAO_5S$	—
Hidroxido de sodio	$NAOH$	97,0%
Ácido Gálico	$C_7H_6O_5$	98,0%

3.5. Métodos

3.5.1. Características del experimento

Mediante los siguientes factores de estudio se detallan las características del experimento que son los números de factores, niveles, réplicas y variables de respuestas que se presentan a continuación en la tabla 6:

Tabla 6

Características del experimento

Diseño	Factorial
Unidad experimental	12
Factores de estudio	2
Nivel factor A	4
Nivel factor B	3
Tratamientos	36
Repeticiones	3
Tamaño de la unidad experimental	500 mg
Variables respuesta	4

Nota: Las variables de respuesta son la actividad antioxidante, polifenoles, flavonoides y antocianinas.

3.5.2. Factores en estudio

Los factores considerados para la obtención de extractos de las diferentes variedades son: Factor A variedades de fréjol con cuatro niveles, Factor B tipos de extracción con tres niveles.

Tabla 7

Factores en estudio

Factores	Códigos	Niveles
Variedad de fréjol	A	a ₁ : Fréjol marrón
		a ₂ : Fréjol negro
		a ₃ : Fréjol panamito
		a ₄ : Fréjol UEB-Bombolín
Tipos de extracto	B	b ₁ : Metanol
		b ₂ : Etanol
		b ₃ : Acetonitrilo

3.5.3. Tratamientos

Los tratamientos que se derivan de los factores de estudio y que se utilizaron como referencia para el desarrollo de la investigación, se presentan en la tabla 8 a continuación:

Tabla 8

Combinación de tratamientos para la investigación

Tratamientos	Código	Variedad + Tipos de solvente
1	a ₁ b ₁	Fréjol marrón + Metanol
2	a ₁ b ₂	Fréjol marrón + Etanol
3	a ₁ b ₃	Fréjol marrón + Acetonitrilo
4	a ₂ b ₁	Fréjol negro + Metanol
5	a ₂ b ₂	Fréjol negro + Etanol
6	a ₂ b ₃	Fréjol negro + Acetonitrilo
7	a ₃ b ₁	Fréjol panamito + Metanol
8	a ₃ b ₂	Fréjol panamito + Etanol
9	a ₃ b ₃	Fréjol panamito + Acetonitrilo
10	a ₄ b ₁	Fréjol UEB-Bombolín + Metanol
11	a ₄ b ₂	Fréjol UEB-Bombolín + Etanol
12	a ₄ b ₃	Fréjol UEB-Bombolín + Acetonitrilo

3.5.4. Tipo de diseño experimental

Se aplicó un diseño factorial de dos variables independientes, en arreglo factorial 4 x 3, donde el factor A representa la variedad de las materias primas a utilizar, el factor B representa los tipos de solventes para extracción; obedeciendo así a un arreglo factorial AxB con 3 repeticiones obteniendo 36 tratamientos.

El modelo matemático aplicado fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

μ : Media General.

α_i : Efecto debido al i-ésimo nivel del factor A.

β_j : Efecto del j-ésimo nivel del factor B.

$(\alpha\beta)_{ij}$: Efecto de interacción en la combinación ij .

ε_{ijk} : Error aleatorio que se supone sigue una distribución.

3.5.5. Modelo de Análisis de varianza (ANOVA)

Se aplicó el siguiente modelo de análisis de varianza:

Tabla 9

Modelo de análisis de varianza (ANOVA)

Fuente de Variabilidad	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	F_0	Valor-p
Factor A	SC_A	$a - 1$	CM_A	CM_A/CM_E	$P(F > F_0^A)$
Factor B	SC_B	$b - 1$	CM_B	CM_B/CM_E	$P(F > F_0^B)$
Interacción AB	SC_{AB}	$(a - 1)(b - 1)$	CM_{AB}	CM_{AB}/CM_E	$P(F > F_0^{AB})$
Error	SC_E	$ab(n - 1)$	CM_E		
Total	SC_r	$abn - 1$			

Nota: Se muestra el modelo ANOVA para el diseño en arreglo factorial AXB, detallada por (Gutiérrez Pulido & De la Vara Salazar, 2008)

3.5.6. Modelo de pruebas de rangos múltiples

Se aplicó el método de la diferencia mínima significativa (LSD) para probar la igualdad de todos los posibles pares de medias:

$$|\bar{Y}_i - \bar{Y}_j| > t_{(\frac{\alpha}{2}, N-k)} \sqrt{CM_E \left(\frac{1}{n_i} + \frac{1}{n_j} \right)} = LSD$$

Donde:

$|\bar{Y}_i - \bar{Y}_j|$: Valor absoluto entre las medias muestrales.

$t_{\left(\frac{\alpha}{2}, N-k\right)}$: Distribución T de Student con $N - k$ grados de libertad que corresponden al error.

k : Número de tratamientos.

CM_E : Cuadrado medio del error que se obtiene de la tabla ANOVA.

n_i, n_j : Número de observaciones para los tratamientos i y j , respectivamente

LSD : Diferencia mínima significativa.

3.6. Metodología experimental

A continuación, procedemos a detallar los análisis realizados a la materia prima:

3.6.1. Análisis bromatológico del fréjol

Para los análisis y cálculos proximales se tomaron como referencia a las metodologías establecidas por Asociación Científica Dedicada a la Excelencia Analítica (AOAC).

Tabla 10

Análisis bromatológico del fréjol

Análisis Bromatológico	Método	Fórmula
Fibra cruda	AOAC 978.10. (WEENDE)	$\% \text{ Contenido de fibra cruda} = \frac{A - B}{C} * 100$
Humedad	AOAC 925.10.	$\%H = \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} * 100$
Cenizas	AOAC 923.03.	$\%C = \frac{(m_3 - m_1)}{(m_2 - m_1)} * 100 * \frac{100}{100 - H}$
Grasas	AOAC 2003.06.	$\% \text{ Grasa} = \frac{P_2 - P_1}{\text{muestra}} * 100$
Proteínas	DUMAS	$\% \text{ Proteína cruda} = \% \text{ Nitrógeno} * 6,25$

Nota: Metodologías detalladas con su respectiva fórmula

3.6.2. Caracterización física del fréjol

Color:

Se realizó un análisis organoléptico para la determinar el color de las distintas variedades.

Forma:

En su interior, las semillas pueden ser oblongas, ovales o redondeadas (según la variedad), poco comprimidas. Todo esto será detallado mediante un análisis organoléptico.

Tamaño:

Cada tipo de fréjol varía su tamaño según su variedad, ya que su ancho puede llegar a medir desde 5.4 hasta 9.5 mm.

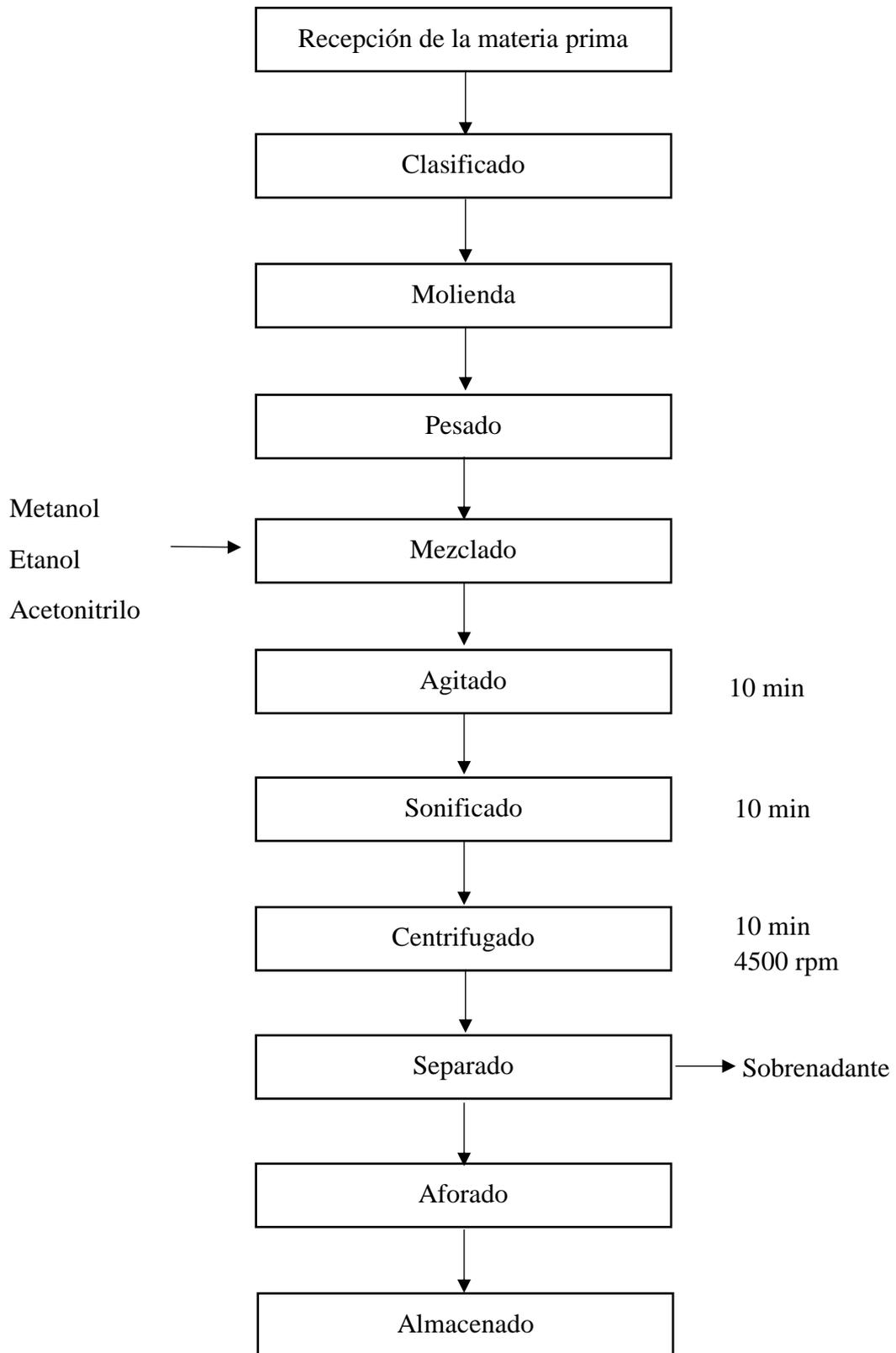
Para obtener un promedio estadístico se realizó un muestreo aleatorio en el que se seleccionan 10 granos de cada variedad para después triplicarlos, posteriormente estas medidas se toman con un calibrador o pie de Rey para poder tener una mayor exactitud.

3.6.3. Obtención de extractos de las diferentes variedades de fréjol (*Phaseolus vulgaris L.*).

Las muestras de fréjol son molidas, para posteriormente ser disueltas en los distintos solventes (metanol, etanol y acetonitrilo) las mezclas se agitaron durante 10 minutos, consecutivamente se ultrasonifica por 10 minutos más para obtener una distribución uniforme de los componentes presentes en la solución. Las muestras se llevaron al proceso de centrifugación para poder separar el sobrenadante del precipitado, eliminando los materiales no deseados y mejorando así la pureza de la muestra para finalmente reservarlo en un balón de aforo color ámbar.

El proceso de agitación, ultrasonificación y centrifugación se realizó 4 veces para aumentar la eficiencia de extracción y poder capturar la mayor cantidad posible de los compuestos antioxidantes que estén presentes en las distintas muestras, cabe destacar que se siguió el método detallado de Vilcacundo et al., (2020) con modificaciones.

3.6.4. Diagrama de flujo para la obtención de extractos de las diferentes variedades de fréjol (*Phaseolus vulgaris* L.)



A continuación, se detallará cada uno de los pasos dentro del diagrama de flujo:

- 1. Recepción de la materia prima:** Se receipta la materia prima que es otorgada del semillero perteneciente a la Universidad Estatal de Bolívar.
- 2. Clasificado:** Se verifica que todos los granos estén limpios, sin ningún cuerpo extraño presente; además se procede a eliminar aquellos que estén deteriorados o en mal estado y los defectos que estos puedan tener.
- 3. Molienda:** Se muelen los granos seleccionados para obtener una harina vegetal.
- 4. Pesado:** En este paso se pesa la cantidad de materia prima molida para poder determinar las muestras a trabajar.
- 5. Mezclado:** El producto obtenido del pesado se procede a mezclar con los distintos tipos de solventes.
- 6. Agitado:** Se procede a agitar la muestra durante 10 minutos.
- 7. Sonificado:** Se procede a sonificar durante unos 10 minutos más.
- 8. Centrifugado:** Las muestras se llevan a la centrífuga a 4500 rpm por 10 minutos a una temperatura de 5°C.
- 9. Separado:** Una vez centrifugada se procede a separar el sobrenadante del precipitado.
- 10. Aforado:** Conservamos el sobrenadante y procedemos a aforar las muestras en un balón de aforo color ámbar.
- 11. Almacenado:** Procedemos a almacenar las muestras a una temperatura de 5°C para sus posteriores análisis de capacidad antioxidante.

3.6.5. Cuantificación del contenido de polifenoles totales, flavonoides totales y antocianinas de las cuatro variedades de fréjol.

3.6.5.1. Polifenoles totales:

La cuantificación de polifenoles totales se realizó mediante el método de Folin-Ciocalteu descrita por el método de (Piñuel et al., 2019) con modificaciones. La reacción de la muestra se dará mediante la mezcla del reactivo Folin-Ciocalteu en presencia de carbonato de sodio y agua. La absorbancia de las muestras se midió a una longitud de onda de 750 nm. Para la elaboración de la curva de calibración se emplea como estándar ácido Gálico.

3.6.5.2. Flavonoides totales:

El contenido de flavonoides totales se determinó, siguiendo el método descrito por Ramos Escudero et al., (2012) con modificaciones. Se utilizó (quercetina-3-O rutinósido) como estándar de referencia en las concentraciones correspondientes para la curva de calibración. La mezcla se dejó reaccionar a temperatura ambiente durante 40 minutos; pasado este tiempo se leyó la absorbancia a 425 nm.

3.6.5.3. Antocianinas:

EL contenido total de antocianinas se calcula usando el método de pH-diferencial bajo el método (AOAC, 2005) que se encuentra descrito por (Saldaña et al., 2021) con modificaciones. La primera solución (pH 1) se prepara mezclando cloruro de potasio con agua destilada, mientras que la segunda solución (pH 4,5) se prepara mezclando trihidrato de acetato de sodio con agua destilada.

El contenido de antocianinas se calcula utilizando una ecuación equivalente de cianidina-3- glucósido expresado por litro del extracto, expresado como miligramo.

$$\text{Pigmento de antocianina} \left(\frac{\text{mg CB GE}}{\text{L}} \right) = \frac{A * \text{megavatios} * FD * 10_3}{\varepsilon * l}$$

Donde:

ε = Coeficiente de extinción molar.

A = Cambio en la absorbancia $(A_{520 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 1.0} - (A_{520 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 4,5}$

FD = Factor de dilución.

l = Longitud del camino

10_3 = Conversión de g a mg

$CB GE$ = Peso molecular (MW) = 449,2g/mol

L = Litros

mg = Miligramos

3.6.6. Determinación la actividad antioxidante in vitro por el método ABTS, FRAP y DPPH de las cuatro variedades de fréjol.

3.6.6.1. Método ABTS:

La determinación de la actividad antioxidante por el método ABTS de los extractos de fréjol se realizó siguiendo la metodología descrita por Piñuel et al., (2019) con modificaciones. Al realizar el método se mezcló 200 uL de extractos más 3800 uL de solución de trabajo de ABTS, consecutivamente las muestras se dejaron reposar durante 45 minutos para posteriormente medir la absorbancia, las cuales se midieron a una longitud de onda a 734 nm. Mencionando que se elaboró una curva de calibración utilizando estándar de Trolox.

3.6.6.2. Método FRAP:

Para la cuantificación del contenido de antioxidantes por el método FRAP se empleó la metodología descrita por Benzie & Strain (1996) con modificaciones. Se mezclaron 1800 uL de reactivo FRAP más 180 uL de agua destilada y 60 uL de extracto, las muestras se incubaron a 37°C, 500 rpm durante 30 minutos finalmente se midió a una absorbancia con una longitud de onda 593 nm. Para el método FRAP se utilizó Trolox para la elaboración de la curva estándar de calibración.

3.6.6.3. Método DPPH:

Se tomó 100 uL de extracto con 3900 uL de solución de DPPH, las muestras se incubaron a una temperatura ambiente en un lugar oscuro durante 30 minutos al transcurrir este tiempo la absorbancia de las muestras se midieron a una longitud de onda 515 nm, como estándar para la elaboración de la curva de calibración, empleando Trolox (W. Brand-Williams, 1995).

3.6.7. Aprovechamiento del mejor tratamiento rico en antioxidantes para la obtención de un suplemento proteico.

Para el desarrollo de este producto se empleó la metodología usada por Houghton (2021) con modificaciones. En el caso de los aislados proteicos comienzan su vida siendo granos de fréjol sin procesar, tras la cosecha, los granos se secan y se trituran

para posteriormente mezclarse con agua para separar la proteína de los azúcares y las fibras.

Las proteínas se extraen de la solución acuosa, se centrifuga y luego se procede a liofilizar para formarse en un polvo. La producción de los aislados de mayor contenido proteico también puede requerir el uso de otros productos químicos ácidos y alcalinos, como tal es el caso en esta investigación que para aumentar el nivel de pH se usó .

Sin embargo, debido a que la proteína puede tener un sabor “desagradable”, pueden utilizarse técnicas de procesamiento adicionales como la fermentación o agentes enmascaradores del sabor para crear un producto final neutro. Con los resultados obtenidos sobre la cuantificación total de antioxidantes se procede a la obtención de un suplemento proteico de la mejor variedad estudiada.

3.6.8. Método de evaluación (variables de respuesta)

Tabla 11

Variables de respuesta

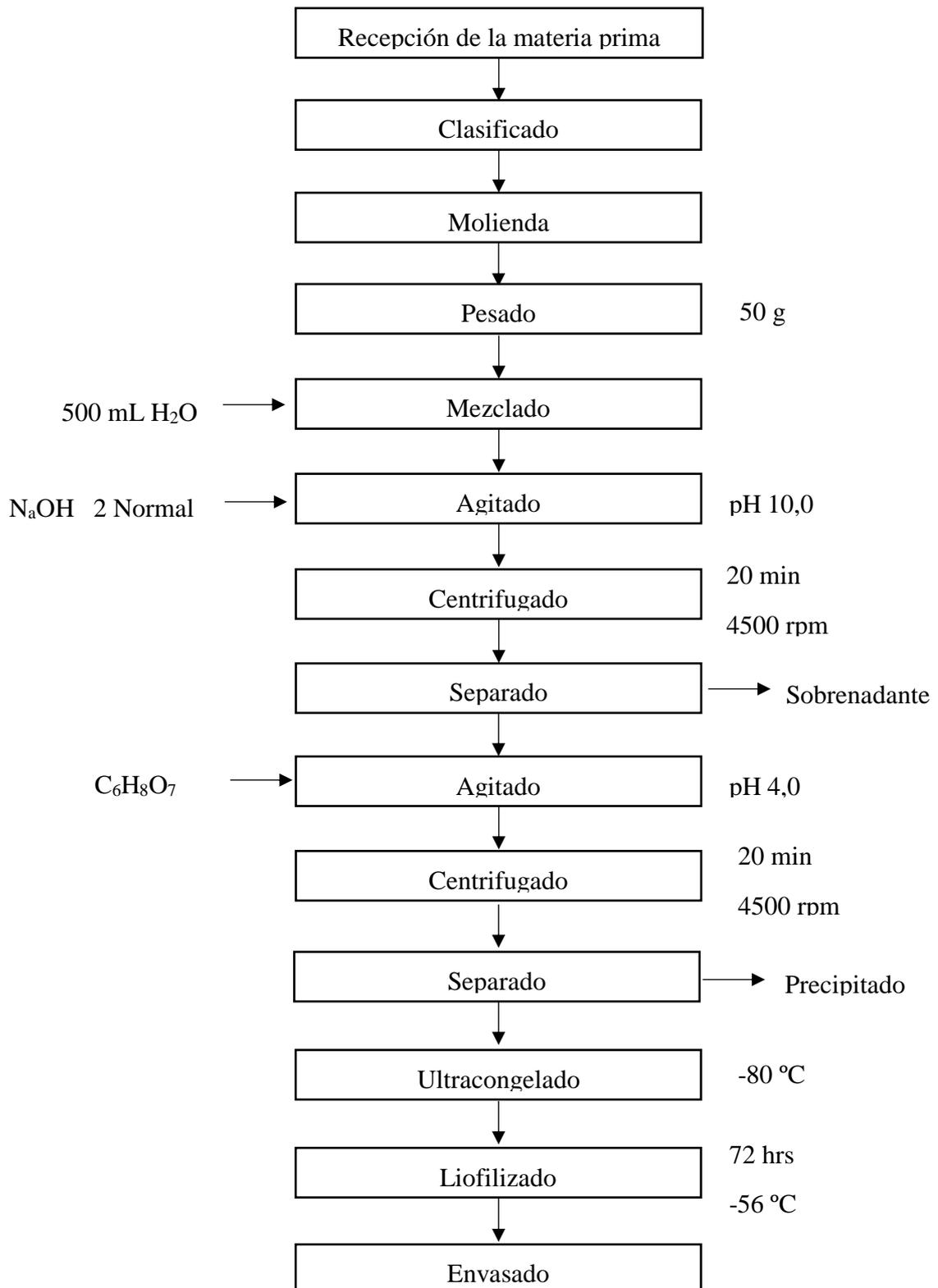
Variable	Método
Polifenoles	Folin Ciocalteu
Flavonoides	Kumazawa et al., (2004)
Antocianinas	pH Diferencial ABTS
Actividad antioxidante	FRAP DPPH

Nota: Metodologías aplicadas en cada una de las variables.

3.6.9. Análisis de datos

Los datos fueron tabulados con el software estadístico STATGRAPHICS Centurion XVI a través de una prueba ANOVA multifactorial con un grado de significación del 95%.

3.6.10. Diagrama de flujo para la obtención de un suplemento proteico de la variedad de fréjol marrón (extracción por puntos isoeléctricos)



A continuación, se detallará cada uno de los pasos dentro del diagrama de flujo:

- 1. Recepción de la materia prima:** Se receipta la materia prima otorgada del semillero perteneciente a la Universidad Estatal de Bolívar, y es ingresada al laboratorio de investigación.
- 2. Clasificado:** Verificar que todos los granos estén limpios, sin ningún cuerpo extraño presente; se elimina aquellos que estén deteriorados o en mal estado.
- 3. Molienda:** Se procede a moler los granos para obtener una harina.
- 4. Pesado:** En este paso se pesan 50 g de harina vegetal en un vaso precipitado.
- 5. Mezclado:** Adicionar 500 mL de agua destilada.
- 6. Agitado:** Agitar continuamente y agregar Hidróxido de sodio 2 Normal en gotas hasta llegar a un pH de 10,0 y seguir agitando en una plancha magnética por 30 minutos.
- 7. Centrifugado:** Centrifugar a 4500 rpm durante 20 minutos a una temperatura de 8 °C.
- 8. Separado:** Se separa el sobrenadante del precipitado y es almacenado en vaso para poder continuar, mientras que el precipitado es desechado.
- 9. Agitado:** Agitar continuamente y agregar ácido cítrico en gotas hasta llegar a un pH de 4,0 y seguir agitando en una plancha magnética por 30 minutos.
- 10. Centrifugado:** Centrifugar a 4500 rpm durante 20 minutos a una temperatura de 8 °C.
- 11. Separado:** Se separa el precipitado del sobrenadante, y el precipitado es almacenado en un frasco plástico, mientras que el sobrenadante es desechado.
- 12. Ultracongelado:** Las muestras deben ingresar al ultracongelador a una temperatura de -80 °C hasta que se solidifiquen.
- 13. Liofilizado:** Una vez solidificadas las muestras ingresan al equipo liofilizador (marca CHRIST) durante 72 horas en el que se dan dos secados; en el primer secado ocurre la sublimación y se remueve entre el 70% y 80% de agua de la muestra, mientras que en el secado secundario ocurre la desorción, es decir que el agua que no fue congelada se evapora.
- 14. Envasado:** Finalmente se procede a envasar de acuerdo a la dosificación que se le otorga al envase.

CAPÍTULO IV

4.1. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1.1. Caracterización física del fréjol.

Para la determinación de color y forma de los granos de las distintas variedades de fréjol se implementó un análisis organoléptico, mientras que para la determinación del tamaño de los granos se realizó un muestreo aleatorio.

Tabla 12

Resultados de la caracterización física de las diferentes variedades de fréjol.

	Fréjol Marrón	Fréjol Negro	Fréjol UEB - Bombolín	Fréjol Panamito
Color	Café oscuro	Negro	Rojo oscuro	Blanco
Forma	Arriñonada	Arriñonada	Redondeada	Arriñonada
Largo mm	9,20	10,05	12,10	7,36
Ancho mm	5,85	6,32	10,19	5,32
Diámetro mm	3,79	4,01	9,63	4,40

Nota: Resultados de dimensiones de las diferentes variedades de fréjol

En la tabla 12 se aprecian los resultados de la caracterización física de los distintos análisis realizados a cada una de las variedades para la determinación de color, forma y tamaño, siendo en tamaño el (largo, ancho y diámetro). Mencionando que el fréjol UEB-Bombolín es una de las variedades que más destaca debido a que sus dimensiones son mayores a comparación de las demás variedades y cuenta con una forma redondeada mientras que las otras variedades tienen una forma arriñonada oblonga.

Según la investigación realizada por Solano Cervantes et al., (2009) se determinó que la longitud del grano estuvo en un rango de 8.5 hasta 15.1 mm obteniendo como promedio 10.8 mm. Destacando aun así el fréjol UEB-Bombolín ya que tiene un promedio de 12.10 como largo.

4.1.2. Resultados de los análisis bromatológicos de las materias primas.

Se realizaron análisis a la harina de las materias primas para determinar el porcentaje de humedad, cenizas, fibra, proteína y grasa.

Tabla 13

Resultados obtenidos del análisis bromatológico de la harina de fréjol

Parámetro	Método	Harina de fréjol			
		Marrón	Negro	UEB-Bombolín	Panamito
Fibra (%)	WEENDE	15,31	24,21	9,86	12,35
Humedad (%)	AOAC 925.10	14,77	11,93	13,07	12,02
Ceniza (%)	AOAC 923.03	4,02	4,58	4,24	4,36
Grasa (%)	AOAC 2003.06	1,17	1,33	1,12	1,26
Proteína (%)	DUMAS	22,85	23,94	22,25	16,58

En la tabla 13 se reflejan los resultados de los análisis realizados a las distintas variedades, resaltando que las variedades que más destacaron fueron la de fréjol marrón y sobre todo la de fréjol negro. Los resultados del estudio podrían ser un punto de partida para definir el parámetro de proteína, indicando que las variedades con mayor proteína fueron el fréjol negro con 23,94% y fréjol marrón 22,85%.

En el caso de cenizas, la variedad con el mayor porcentaje fue el fréjol negro con 4,58%, mientras que el de menor porcentaje fue el fréjol marrón, por otro lado, el contenido de humedad del fréjol está dentro de un rango aceptable, es indudablemente el factor más importante en la vida de las semillas, en el caso del fréjol marrón su porcentaje es de 14,77% esto puede variar según la humedad relativa del ambiente en que se encuentra.

Por otra parte, los resultados de Mencía et al. (2020) indican rangos similares para proteína los cuales oscilan entre 16 y 27 %, cenizas de 4 a 6 % y el contenido de humedad entre 11 y 17 %.

En el contenido de fibra en la harina de fréjol, indicó que el fréjol negro tuvo el mayor porcentaje con 24,21% y en el caso del fréjol UEB-Bombolín tuvo un menor porcentaje con 9,86%. Por otro lado, el estudio de Blandón & Larios (2019), identificaron en diferentes variedades de fréjoles contenidos altos de grasas (3-7%); mencionando que en la investigación nuestro rango fue menor. No obstante, esto puede depender del tipo y condición en que se encuentran.

4.1.2.1. Correlación de las variables fisicoquímicas.

Hay que resaltar que la funcionalidad de cada variedad de fréjol se define en gran medida por sus propiedades físicas y químicas, las cuales proporcionan una base importante para la comprensión de la composición nutricional y las características de los granos. Por lo tanto, a continuación, se representan los datos obtenidos de una correlación de variables para la evaluación de relación entre el diámetro de los granos de cada variedad de fréjol y los distintos resultados obtenidos en los análisis bromatológicos.

Tabla 14

Resultados obtenidos mediante la correlación de Pearson

Correlación	Fréjol Marrón	Fréjol Negro	Fréjol Panamito	Fréjol UEB - Bombolín
Diámetro mm	1,00	1,00	1,00	1,00
Proteína	0,03	0,00	-0,95	-0,78
Fibra	-0,85	0,52	0,56	0,99
Humedad	1,00	-0,11	-0,56	0,63
Cenizas	-0,11	-0,88	0,99	-0,49
Grasa	1,00	-0,52	-0,56	0,99

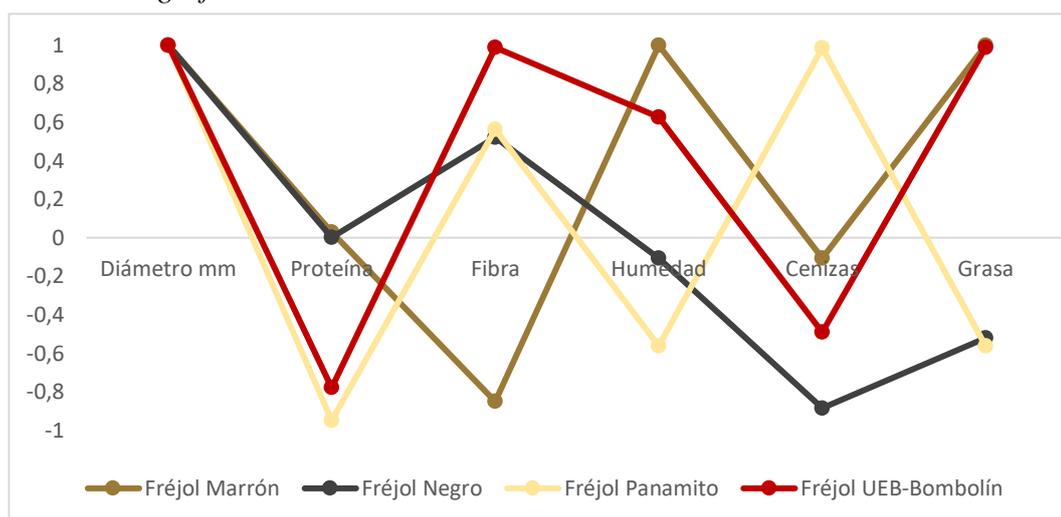
Nota: Las mediciones de las diferentes variedades de fréjol están representadas en Diámetros mm

La tabla 14 nos muestra los datos obtenidos mediante la correlación de Pearson para las variables presentes, dándonos a entender que si la correlación es menor a cero significa que es negativa, por lo tanto, las variables se relacionan de manera inversa, por otro lado, si la correlación es mayor a cero significa que es positiva, de tal

manera que las variables se relacionan de manera directa. Es decir, a medida que aumenta una variable, también lo hará el valor de la otra. Un valor de cero indica que no hay ningún tipo de relación entre las dos variables. Los valores reflejados en la tabla 14 son proyectados de manera gráfica a continuación para una mayor comprensión e interpretación de la información estadística.

Gráfico 1

Resultados gráficos obtenidos mediante correlación de Pearson



En el gráfico 1 se indica la correlación entre las variables fisicoquímicas y cada uno de los diámetros de las distintas variedades de fréjol. En este caso la variedad que tiene una relación más directa entre su diámetro y cada una de sus variables es el fréjol UEB-Bombolín, debido a que al aumentar su diámetro aumentaría también su cantidad de fibra, humedad y grasa. Pero las variables faltantes (proteína y cenizas) serían inversamente proporcional al aumento del diámetro del grano.

4.1.3. Obtención de extractos de las distintas variedades.

Por lo general, en la obtención de los extractos de las diferentes variedades de fréjol (*Phaseolus vulgaris* L.) los compuestos bioactivos se llevaron a cabo mediante la molienda y disueltas en metanol, etanol y acetonitrilo. Las cuales, según Yang et al., (2021) “Las concentraciones de etanol fueron beneficiosas para la extracción, y fue favorable para un mayor contenido de prolamina”. De la misma manera, la investigación de Chávez et al., (2015) menciona que el extracto etanólico de la

corteza de fréjol negro es una excelente fuente de antocianinas. Según lo descrito por Rodríguez Madrera et al., (2021) Indica que los compuestos fenólicos en fréjoles con cortezas de colores fuertes (rojo, negro y marrón) son los que indican una mayor capacidad antioxidante, mientras que aquellos con cortezas completamente blancas carecen de aquella capacidad o la poseen en muy baja cantidad. Al obtener los extractos de las variedades de fréjol con los distintos solventes establecidos, las diferencias fenotípicas son variables de acuerdo con las combinaciones realizadas, lo cual se puede reflejar mediante su color (Anexo 8). Siendo el T6 uno de los tratamientos más destacados en concentración de color.

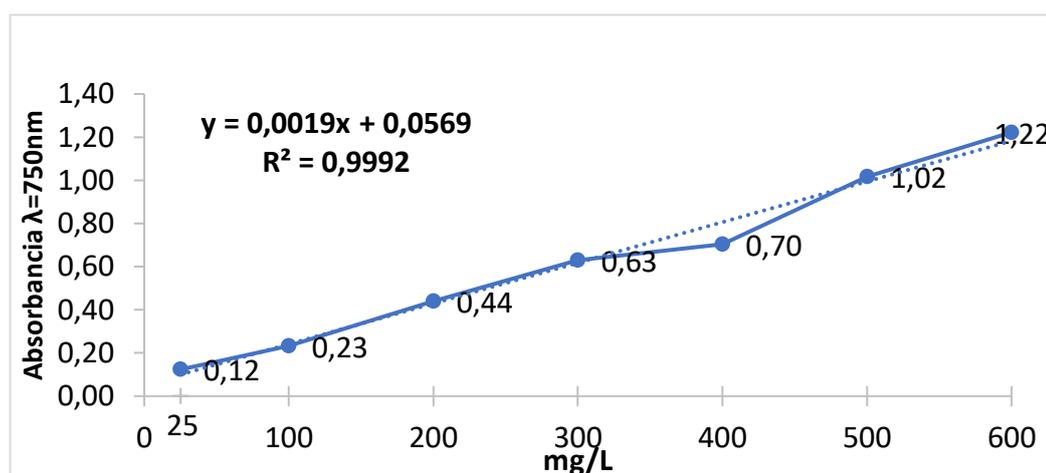
4.1.4. Cuantificación de polifenoles, flavonoides y antocianinas totales.

4.1.4.1. Polifenoles

Para la cuantificación de polifenoles totales se midió la absorbancia de las distintas concentraciones de ácido gálico en un rango de 25 a 600 mg/L, para posteriormente elaborar una curva estándar (Gráfico 2). El contenido de polifenoles totales es expresado en mg Eq AG/g muestra.

Gráfico 2

Curva estándar de ácido gálico



En el gráfico 2 se indica los valores de absorbancia de las distintas concentraciones y que la ecuación de la línea de tendencia muestra una relación lineal entre la concentración de ácido gálico y la absorbancia, dando como resultado: $y = 0,0019x + 0,0569$, con un $R^2 = 0,9992$.

Tabla 15*Análisis de Varianza para mg Eq AG/g muestra - Suma de Cuadrados Tipo III*

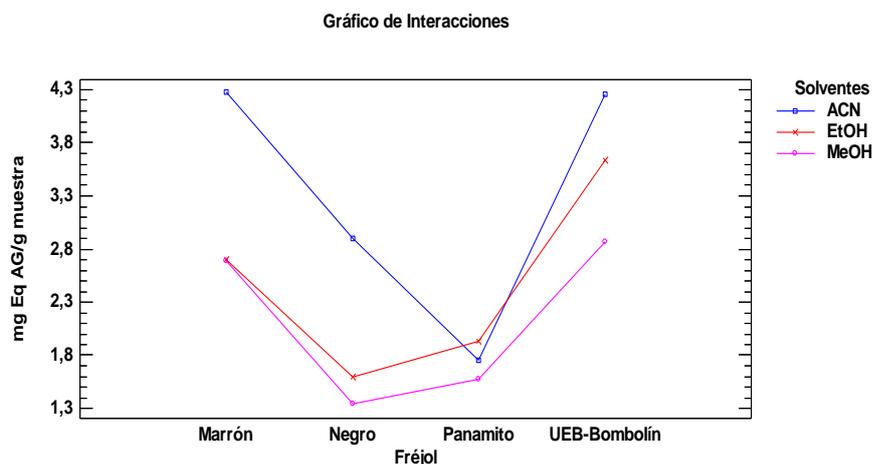
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS					
A: Fréjol	22,5601	3	7,52003	108,68	0,0000**
B: Solventes	8,81479	2	4,4074	63,69	0,0000**
INTERACCIONES					
AB	3,51204	6	0,585339	8,46	0,0001**
RESIDUOS	1,6607	24	0,0691959		
TOTAL	36,5476	35			

**Diferencia estadística altamente significativa.

La tabla 15 indica que los valores-P prueban la significancia estadística de los factores. Puesto que los 3 valores-P son menores que 0,05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre mg Eq AG/g muestra con un 95,0% de nivel de confianza. Explicando que la cantidad de polifenoles presentes en cada tratamiento depende de la variedad de fréjol y el solvente que se utilice al momento de la preparación de cada uno de los tratamientos.

Gráfico 3

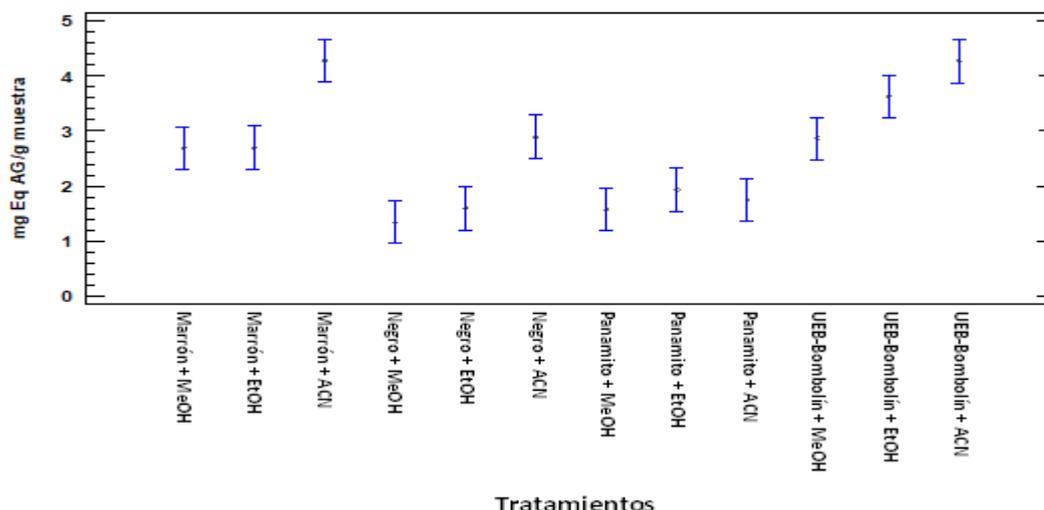
Interacción de la cuantificación de polifenoles totales entre variedad de fréjol (Factor A) y tipos de solvente (Factor B).



En el gráfico 3 se proyectan los resultados de interacción de la cuantificación de polifenoles totales en las diferentes variedades de fréjol y solvente. Indicando que las líneas de tendencia representan interacciones en donde las combinaciones Marrón + ACN ($a_1 b_3$) y UEB-Bombolín + ACN ($a_4 b_3$) son las que demuestran valores más altos y no presentan diferencia significativa entre sí.

Gráfico 4

Análisis de medias para mg Eq AG/g muestra por tratamientos.



Nota: Tabla de medias elaborada por la metodología de Tukey HSD al 95,0%.

En el gráfico 4 se muestra un análisis de medias en el cual se aprecia como varían los promedios de la variable mg Eq AG/g muestra entre los distintos tratamientos, demostrando que no existe diferencia significativa en los tratamientos con un mayor resultado de polifenoles (UEB-Bombolín + ACN y Marrón + ACN). De igual manera para los tratamientos más bajos en polifenoles no existe diferencia significativa (Negro + MeOH, Panamito + MeOH, Negro + EtOH, Panamito + ACN). Para finalizar con la cuantificación de polifenoles totales se presenta a continuación resultados planteados de la prueba de múltiples rangos por metodología Tukey HSD al 95% de confianza por tratamientos, detallada en la tabla 16 que se muestra a continuación de los, se detallan los valores de cada uno de los tratamientos de las diferentes variedades de fréjol, para establecer el nivel de incidencia de cada uno de los 12 tratamientos en donde se puede determinar claramente las diferencias significativas que existen en las presentes muestras.

Tabla 16

Prueba de Múltiples Rangos por metodología Tukey HSD al 95% de confianza para mg Eq AG/g muestra por tratamientos.

Tratamientos	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Negro + MeOH	3	1,33943	E
Panamito + MeOH	3	1,57755	ED
Negro + EtOH	3	1,59552	ED
Panamito + ACN	3	1,75554	ED
Panamito + EtOH	3	1,93458	D
Marrón + MeOH	3	2,69109	C
Marrón + EtOH	3	2,697	C
UEB-Bombolín + MeOH	3	2,86679	C
Negro + ACN	3	2,89501	C
UEB-Bombolín + EtOH	3	3,63845	B
UEB-Bombolín + ACN	3	4,2619	A
Marrón + ACN	3	4,28008	A

Los resultados de los tratamientos detallados en la tabla 16, en el caso del fréjol Marrón + ACN (T3) y UEB-Bombolín + ACN (T12) fueron de los más altos en cuantificación de polifenoles totales sin presentar diferencia significativa, corroborando así que el solvente con mejores resultados fue el acetonitrilo.

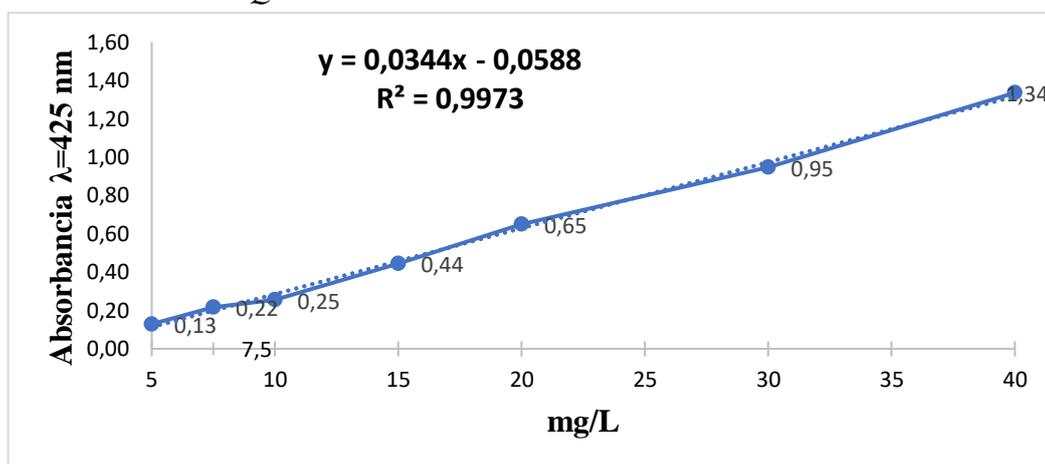
Los resultados obtenidos del presente proyecto ofrecen perspectivas con respecto a la variabilidad de datos ante los estudios realizados por Pérez et al., (2020) en donde sus resultados oscilan entre 1,91 a 5,66 mg Eq AG/g muestra, indicando que los resultados del presente proyecto encajan, pero no sobresalen, mientras que en la investigación realizada por Claros Osorio, (2021) se obtuvieron resultados muchos más bajos los cuales rondan desde 0,61 hasta 2,61 mg Eq AG/g muestra. Esto podría darse por varios motivos cómo las condiciones del cultivo, porcentajes de volúmenes entre extracto y solvente o el procesamiento de las muestras.

4.1.4.2. Flavonoides

Para la cuantificación de flavonoides totales se midió la absorbancia de las distintas concentraciones de quercetina en un rango de 5 a 40 mg/L, para posteriormente elaborar una curva estándar (gráfico 5). El contenido de flavonoides totales es expresado en mg EqQ/g muestra.

Gráfico 5

Curva estándar de Quercetina



En el gráfico 5 se indica los valores de absorbancia de las distintas concentraciones y que la ecuación de la línea de tendencia muestra una relación lineal entre la concentración de quercetina y la absorbancia, dando como resultado: $y = 0,0344x + 0,0588$, con un $R^2 = 0,9973$.

Tabla 17

Análisis de Varianza para mg EqQ/g muestra - Suma de Cuadrados Tipo III.

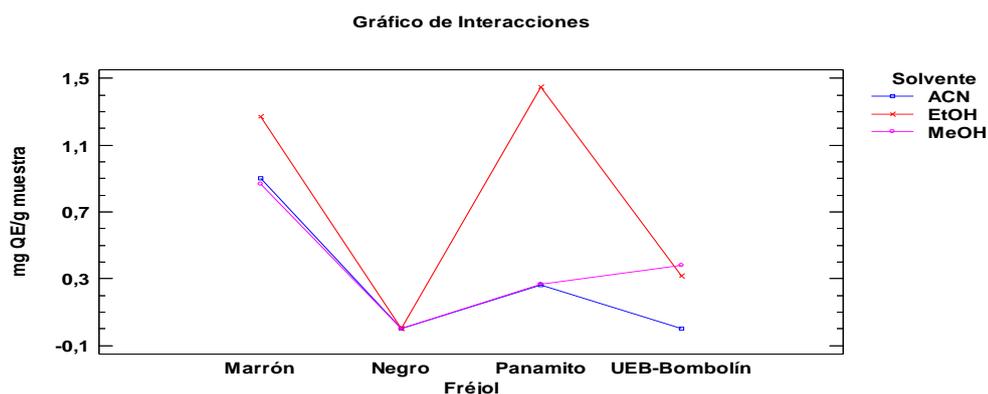
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS					
A: Fréjol	5,47711	3	1,8257	1124,81	0,0000**
B: Solvente	1,49038	2	0,745192	459,11	0,0000**
INTERACCIONES					
AB	1,86885	6	0,311475	191,90	0,0000**
RESIDUOS	0,038955	24	0,00162312		
TOTAL	8,8753	35			

**Diferencia estadística altamente significativa

La tabla 17 indica que los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que los 3 valores-P son menores que 0,05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo de mg EqQ/g muestra con un 95,0% de nivel de confianza. Explicando que la cantidad de flavonoides presentes en cada tratamiento depende de la variedad de fréjol y el solvente que se utilice al momento de la preparación de cada uno de los tratamientos.

Gráfico 6

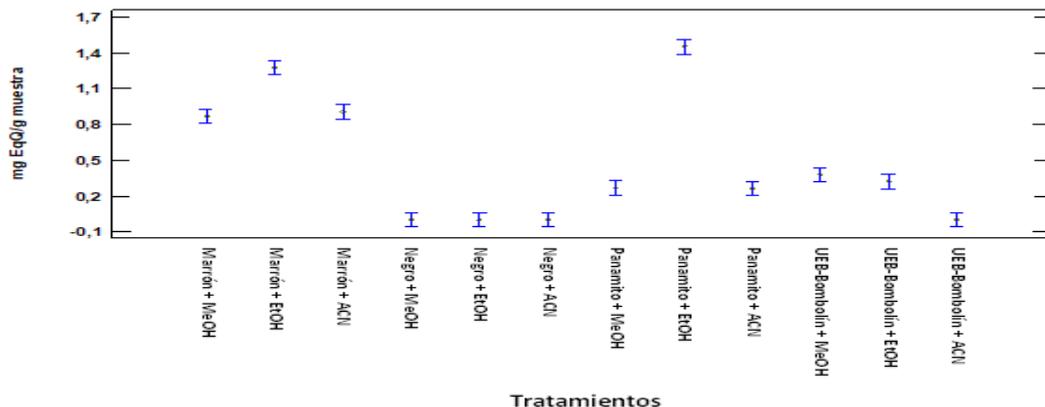
Interacción de la cuantificación de flavonoides totales entre variedad de fréjol (Factor A) y tipos de solvente (Factor B).



En el gráfico 6, se proyectan los resultados de interacción de la cuantificación de flavonoides totales en las diferentes variedades de fréjol y solvente. Indicando que las líneas de tendencia representan interacciones en donde la combinación de Panamito + EtOH ($a_3 b_2$) es la que demuestra valores más altos y presenta diferencia significativa ante los demás tratamientos.

Gráfico 7

Análisis de medias para mg EqQ/g muestra por tratamientos.



Nota: Tabla de medias elaborada por la metodología de Tukey HSD al 95,0%.

En el gráfico 7 se muestra un análisis de medias en el cual se aprecia como varían los promedios de la variable mg EqQ/g muestra entre los distintos tratamientos, demostrando que existe diferencia significativa en el tratamiento que tiene un mayor resultado de flavonoides. Para finalizar con la cuantificación de flavonoides totales se presenta a continuación la prueba de rango múltiples para establecer el nivel de incidencia de cada uno de los 12 tratamientos en donde se puede determinar claramente las diferencias significativas que existen en las presentes muestras.

Tabla 18

Prueba de Múltiples Rangos por metodología Tukey HSD al 95% de confianza para EqQ/g muestra por tratamientos.

Tratamientos	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Negro + ACN	3	N/D	E
Negro + MeOH	3	N/D	E
UEB-Bombolín + ACN	3	N/D	E
Negro + EtOH	3	N/D	E
Panamito + ACN	3	0,261093	D
Panamito + MeOH	3	0,267328	D
UEB-Bombolín + EtOH	3	0,317331	D
UEB-Bombolín + MeOH	3	0,379337	D
Marrón + MeOH	3	0,866655	C
Marrón + ACN	3	0,902571	C
Marrón + EtOH	3	1,27146	B
Panamito + EtOH	3	1,44943	A

La tabla 18 nos indica que el tratamiento Panamito + Etanol (T8) es de los que presenta una mayor cuantificación de flavonoides totales presentando diferencia significativa, corroborando así que el solvente con mejores resultados fue el etanol (b2) y que la mejor variedad de fréjol fue panamito (a3). De acuerdo con la investigación de Pérez et al., (2020) se pueden comparar los valores del estudio debido a que sus resultados oscilan entre 0.83 a 3.31 mg EQ/g, sobrepasando los

resultados obtenidos del presente proyecto. También cabe recalcar que en los resultados obtenidos se aprecia que los tratamientos: Negro + ACN (T6), Negro + MeOH (T4), UEB-Bombolín + ACN (T12) y Negro + EtOH (T5), fueron valores no determinados (N/D), es esto es debido a que estas variedades son de colores totalmente oscuros y según lo redactado por López, (2002) nos indica que “Los flavonoides son sustancias sólidas cristalizadas de color blanco o amarillento, son solubles en agua caliente, alcohol y disolventes orgánicos polares, siendo insolubles en los apolares”.

4.1.4.3. Antocianinas

Los resultados obtenidos de la cuantificación de antocianinas totales se expresan en mg CY3GE/g muestra.

Tabla 19

Análisis de Varianza para mg CY3GE/g muestra - Suma de Cuadrados Tipo III.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS					
A: Fréjol	577216,	3	192405,	1241,36	0,0000**
B: Solvente	68889,2	2	34444,6	222,23	0,0000**
INTERACCIONES					
AB	123800,	6	20633,3	133,12	0,0000**
RESIDUOS	3719,91	24	154,996		
TOTAL	773625,	35			

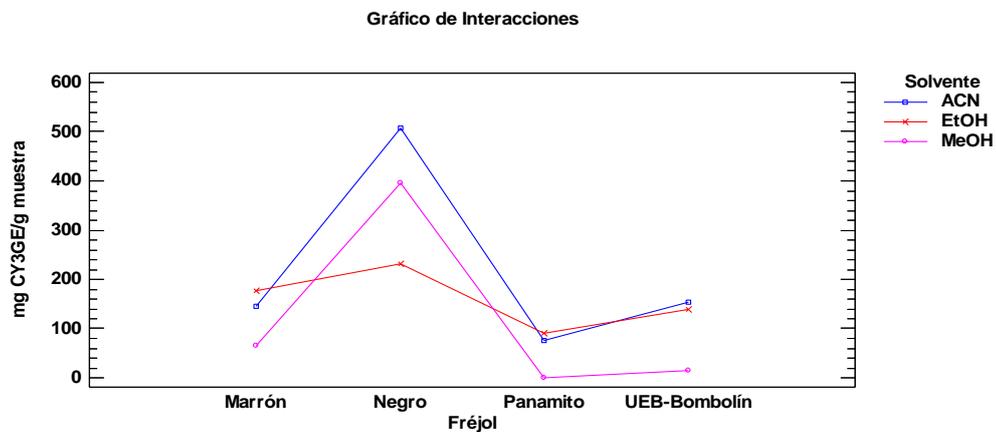
**Diferencia estadística altamente significativa.

En la tabla 19 se detalla la cuantificación de antocianinas totales, factor A (Variedad de fréjol), factor B (Tipo de solvente) que indica que los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que los 3 valores-P son menores que 0,05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre mg CY3GE/g muestra con un 95,0% de nivel de confianza. Explicando que

la cantidad de polifenoles presentes en cada tratamiento depende de la variedad de fréjol y el solvente que se utilice al momento de la preparación de cada uno de los tratamientos.

Gráfico 8

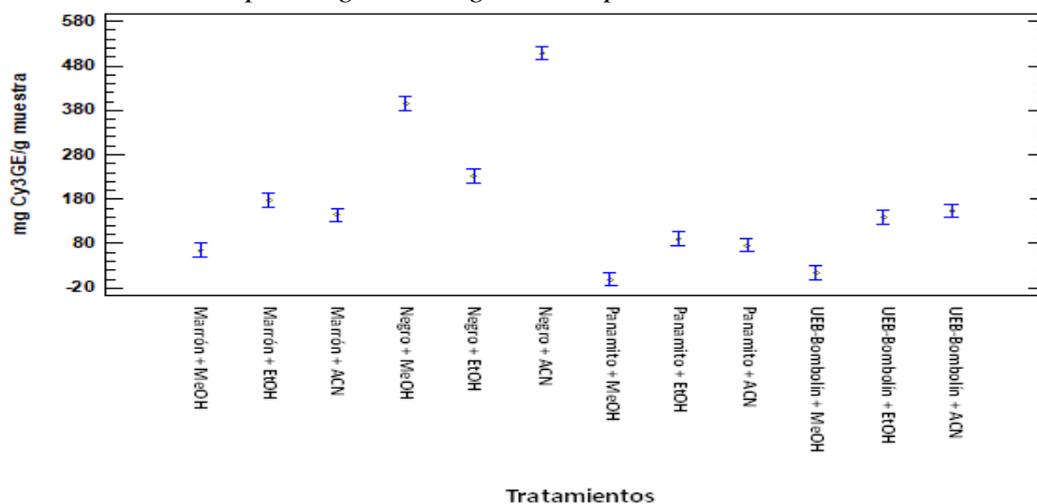
Interacción de la cuantificación de antocianinas totales entre variedad de fréjol (Factor A) y tipos de solvente (Factor B).



El gráfico 8 representa los resultados de interacción de la cuantificación de antocianinas totales en las diferentes variedades de fréjol y solvente, indicando que las líneas de tendencia representan interacciones en donde la combinación de Negro + Acetonitrilo (a2 y b3) tienen la mayor cuantificación de antocianinas totales y que no presentan diferencia significativa.

Gráfico 9

Análisis de medias para mg CY3GE/g muestra por tratamientos.



Nota: Tabla de medias elaborada por la metodología de Tukey HSD al 95,0%.

En el gráfico 9 se muestra un análisis de medias en el cual se aprecia como varían los promedios de la variable mg CY3GE/g muestra entre los distintos tratamientos, demostrando que existe diferencia significativa en el tratamiento que tiene un mayor resultado de antocianinas.

Para finalizar con la cuantificación de antocianinas totales se presenta a continuación la prueba de rango múltiples para establecer el nivel de incidencia de cada uno de los 12 tratamientos en donde se puede determinar claramente las diferencias significativas que existen en las presentes muestras.

Tabla 20

Prueba de Múltiples Rangos por metodología Tukey HSD al 95% de confianza para mg CY3GE/g muestra por tratamientos.

Tratamientos	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Panamito + MeOH	3	N/D	G
UEB-Bombolín + MeOH	3	13,86	G
Marrón + MeOH	3	65,6067	F
Panamito + ACN	3	75,9667	F
Panamito + EtOH	3	90,9	F
UEB-Bombolín + EtOH	3	138,883	E
Marrón + ACN	3	145,16	ED
UEB-Bombolín + ACN	3	153,613	ED
Marrón + EtOH	3	177,8	D
Negro + EtOH	3	231,607	C
Negro + MeOH	3	395,403	B
Negro + ACN	3	507,91	A

En la tabla 20 se detalla la prueba de rango múltiples usando el método Tukey HSD. Según los resultados obtenidos el tratamiento Negro + ACN (T6) fue de los más altos en cuantificación de antocianinas totales, corroborando así que la variedad con mejor resultado fue el fréjol negro y el mejor solvente fue el acetonitrilo,

sobrepasando los resultados obtenidos por Rochín Medina et al., (2021) en donde las concentraciones se mostraban en un rango de 23,00 a 346,00 mg CY3GE/g muestra. También cabe recalcar que en el tratamiento Panamito + Metanol no se determinó un valor, este se debe a la coloración de esta variedad ya que de acuerdo con el estudio realizado por Fennema & Tannenbaum, (1993) indica que las antocianinas son responsables del color azul, púrpura, violeta, magenta, rojo y naranja. Colores los cuales carece la variedad panamito.

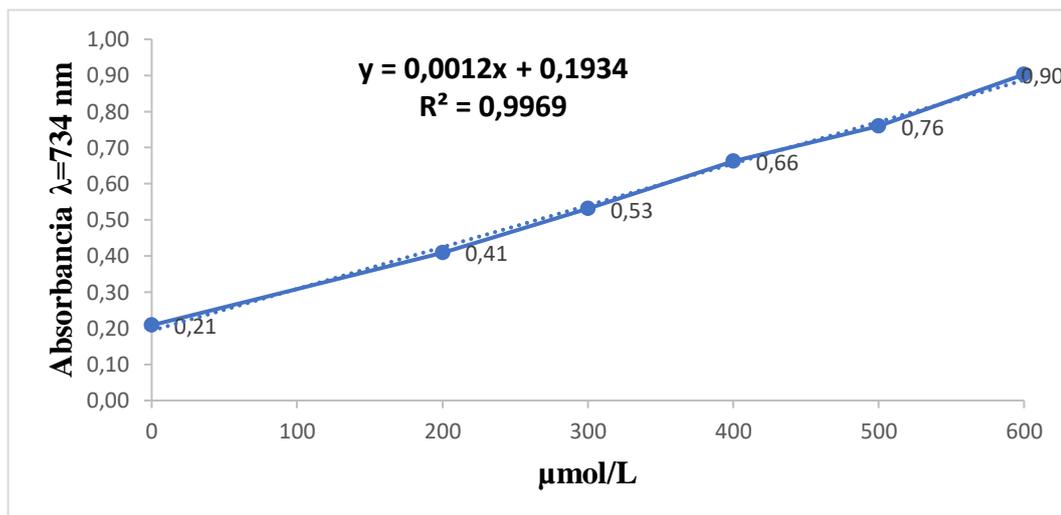
4.1.5. Actividad antioxidante *in vitro* mediante ABTS, FRAP, y DPPH.

4.1.5.1. Resultados del método ABTS

Para la determinación de la capacidad antioxidante por el método ABTS se midió la absorbancia de las distintas concentraciones de trolox, para posteriormente elaborar una curva estándar (gráfico 10). La capacidad antioxidante es expresada en $\mu\text{mol ET/g}$ muestra.

Gráfico 10

Curva estándar de trolox por ABTS



Podemos mencionar que al visualizar el gráfico 10 que nos indica los valores de absorbancia a una longitud de onda de 734 nm de las distintas concentraciones detalladas en el gráfico y que la ecuación de la línea de tendencia muestra una relación lineal entre la concentración de trolox en un rango de 0 a 600 $\mu\text{mol/L}$ dando como resultado: $y = 0,0012x + 0,1934$, con un $R^2 = 0,9969$, destacando que están dentro del rango.

Tabla 21

Análisis de Varianza para $\mu\text{mol ET/g}$ muestra por ABTS - Suma de Cuadrados Tipo III.

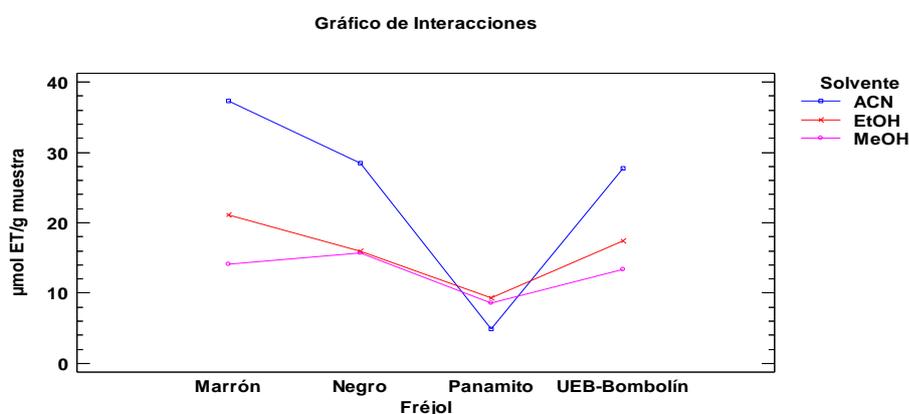
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A: Fréjol	7400,81	3	2466,94	368,27	0,0000**
B: Solvente	1842,86	2	921,432	137,55	0,0000**
INTERACCIONES					
AB	1512,29	6	252,049	37,63	0,0000**
RESIDUOS	160,771	24	6,69878		
TOTAL	10916,7	35			

**Diferencia estadística altamente significativa.

La tabla 21 de los análisis de varianzas para $\mu\text{mol ET/g}$ muestra indica que los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Cabe destacar que los 3 valores-P son menores que (0,05), al mencionar esto los factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre $\mu\text{mol ET/g}$ muestra con un 95,0% de nivel de confianza. Explicando que la capacidad antioxidante presente en cada tratamiento depende de la variedad de fréjol y el solvente que se utilice al momento de la preparación de cada uno de los tratamientos.

Gráfico 11

Interacción de la determinación de antioxidantes totales entre variedad de fréjol (Factor A) y tipos de solvente (Factor B) en ABTS.



El gráfico 11 representa los resultados de interacción de la capacidad antioxidante en las diferentes variedades de fréjol y solvente. Indicando que las líneas de tendencia representan interacciones en donde la combinación Marrón + Acetonitrilo ($a_1 b_3$) tienen la mayor cantidad de antioxidantes totales.

Tabla 22

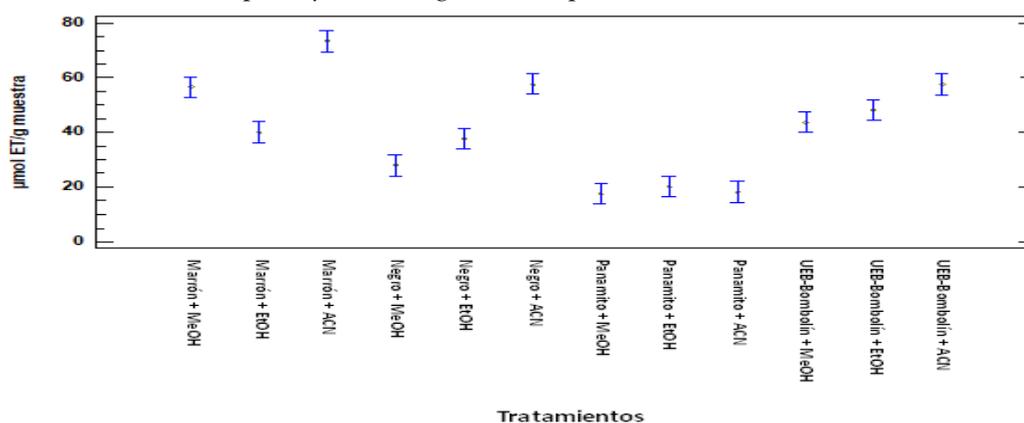
Prueba de Múltiples Rangos por metodología Tukey HSD al 95% de confianza para $\mu\text{mol ET/g}$ muestra por tratamientos en ABTS.

Tratamientos	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Panamito + MeOH	3	17,6212	G
Panamito + ACN	3	18,2113	G
Panamito + EtOH	3	20,2033	G
Negro + MeOH	3	27,9655	F
Negro + EtOH	3	37,8208	E
Marrón + EtOH	3	40,0268	ED
UEB-Bombolín + MeOH	3	43,7602	D
UEB-Bombolín + EtOH	3	48,1734	C
Marrón + MeOH	3	56,6944	B
UEB-Bombolín + ACN	3	57,5232	B
Negro + ACN	3	57,6174	B
Marrón + ACN	3	73,4936	A

La tabla 22 indica que el tratamiento Marrón + ACN (T3) fue de los más altos en antioxidantes totales presentando diferencia significativa ante los demás tratamientos. Según los resultados obtenidos en la investigación de Claros, (2021) indica que sus valores varían desde 11,39 hasta 45,29 $\mu\text{mol ET/g}$ muestra, mientras que los resultados del presente estudio muestran cantidades más elevadas debido a la implementación del acetonitrilo y su capacidad para disolver compuestos polares como lo son los antioxidantes.

Gráfico 12

Análisis de medias para $\mu\text{mol ET/g}$ muestra por tratamientos en ABTS.



Nota: Tabla de medias elaborada por la metodología de Tukey HSD al 95,0%.

En el gráfico 12 se muestra un análisis de medias en el cual se aprecian los promedios de la variable $\mu\text{mol ET/g}$ muestra entre los distintos tratamientos, demostrando que existe diferencia significativa en el mejor tratamiento.

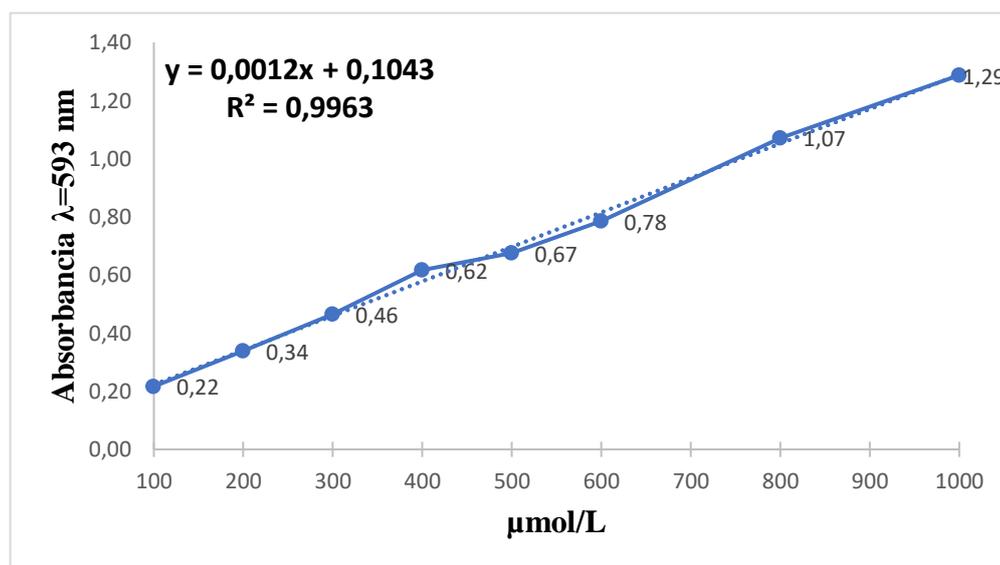
Para finalizar con la determinación de la capacidad antioxidante por ABTS se presenta a continuación la prueba de rango múltiples para establecer el nivel de incidencia de cada uno de los 12 tratamientos en donde se puede determinar claramente las diferencias significativas que existen en las presentes muestras.

4.1.5.2. Resultados del método FRAP

En la determinación de la capacidad antioxidante por el método FRAP se midió la absorbancia a una longitud de onda de 593 nm de las distintas concentraciones de trolox, en un rango de 100 a 1000 $\mu\text{mol/L}$, para posteriormente elaborar una curva estándar usó una curva estándar de trolox (gráfico 13). La capacidad antioxidante es expresada en $\mu\text{mol ET/g}$ muestra.

Gráfico 13

Curva estándar de trolox por FRAP



En el gráfico 13 se indica los valores de absorbancia de las distintas concentraciones y que la ecuación de la línea de tendencia muestra una relación lineal entre la concentración de trolox y la absorbancia, dando como resultado: $y = 0,0012x + 0,1043$, con un $R^2 = 0,9963$.

Tabla 23

Análisis de Varianza para $\mu\text{mol ET/g}$ muestra por FRAP- Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A: Fréjol	2297,42	3	765,807	975,70	0,0000**
B: Solvente	652,885	2	326,442	415,92	0,0000**
INTERACCIONES					
AB	448,879	6	74,8132	95,32	0,0000**
RESIDUOS	18,8371	24	0,784877		
TOTAL	3418,02	35			

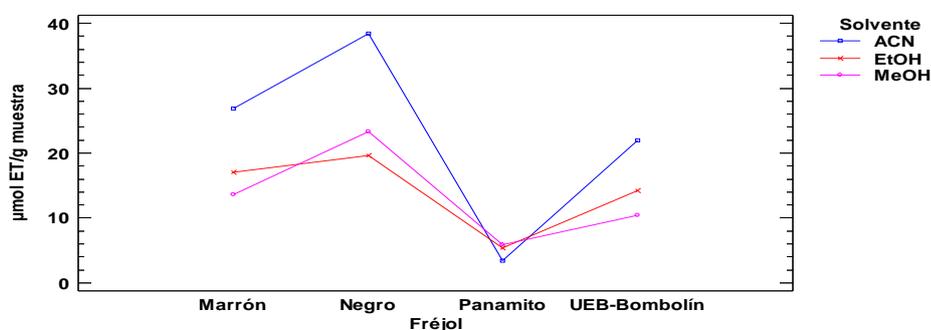
**Diferencia estadística altamente significativa

La tabla 23 nos indica que los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que los 3 valores-P son menores que 0,05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre $\mu\text{mol ET/g}$ muestra con un 95,0% de nivel de confianza. Explicando que la capacidad antioxidante presente en cada tratamiento depende de la variedad de fréjol y el solvente que se utilice al momento de la preparación de cada uno de los tratamientos.

Gráfico 14

Interacción de la determinación de antioxidantes totales entre variedad de fréjol (Factor A) y tipos de solvente (Factor B) en FRAP.

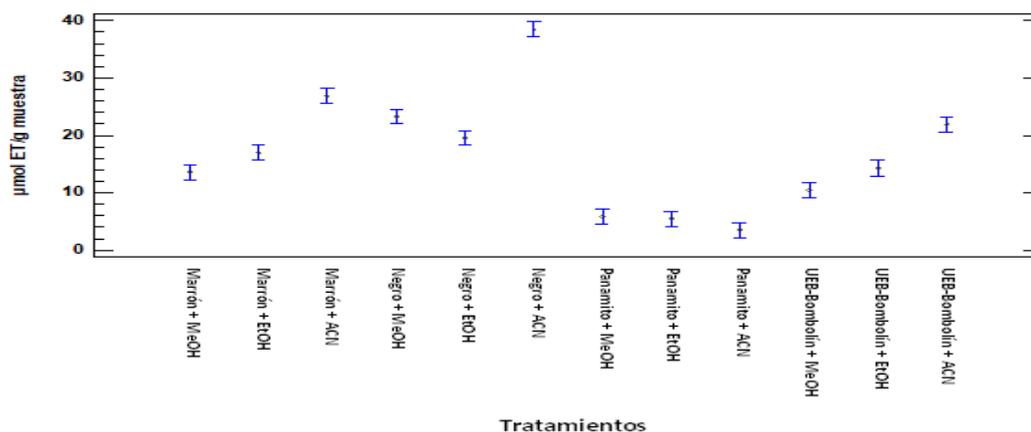
Gráfico de Interacciones



El gráfico 14 representa los resultados de interacción de la capacidad antioxidante en las diferentes variedades de fréjol y solvente. Indicando que las líneas de tendencia representan interacciones en donde la combinación Negro + Acetonitrilo ($a_2 b_3$) tienen la mayor cantidad de antioxidantes totales.

Gráfico 15

Análisis de medias para $\mu\text{mol ET/g muestra}$ por tratamientos en FRAP.



Nota: Tabla de medias elaborada por la metodología de Tukey HSD al 95,0%.

En el gráfico 15 se muestra un análisis de medias en el cual se aprecian los promedios de la variable $\mu\text{mol ET/g muestra}$ entre los distintos tratamientos, demostrando que existe diferencia significativa en el mejor tratamiento.

Para finalizar con la determinación de la capacidad antioxidante por FRAP se presenta a continuación la prueba de rango múltiples para establecer el nivel de incidencia de cada uno de los 12 tratamientos en donde se puede determinar claramente las diferencias significativas que existen en las presentes muestras.

Tabla 24

Pruebas de Múltiple Rangos por metodología Tukey HSD al 95% de confianza para $\mu\text{mol ET/g muestra}$ por tratamientos en FRAP.

Muestras	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Panamito + ACN	3	3,47374	I
Panamito + EtOH	3	5,40064	H
Panamito + MeOH	3	5,85789	H
UEB-Bombolín + MeOH	3	10,4237	G
Marrón + MeOH	3	13,556	F
UEB-Bombolín + EtOH	3	14,2852	F
Marrón + EtOH	3	17,0037	E
Negro + EtOH	3	19,6173	D
UEB-Bombolín + ACN	3	21,9208	C
Negro + MeOH	3	23,3155	C
Marrón + ACN	3	26,8868	B
Negro + ACN	3	38,4807	A

La tabla 24 nos indica que el tratamiento Negro + ACN (T6) fue de los más altos en antioxidantes totales presentando una diferencia significativa ante los demás tratamientos.

Mencionando que estos valores concuerdan con los análisis realizados por Pérez et al., (2020) en su investigación, en donde sus resultados rondan entre 5,24 a 36,99 $\mu\text{mol ET/g}$ muestra, los cuales se asemejan demasiado a los resultados obtenidos del presente proyecto.

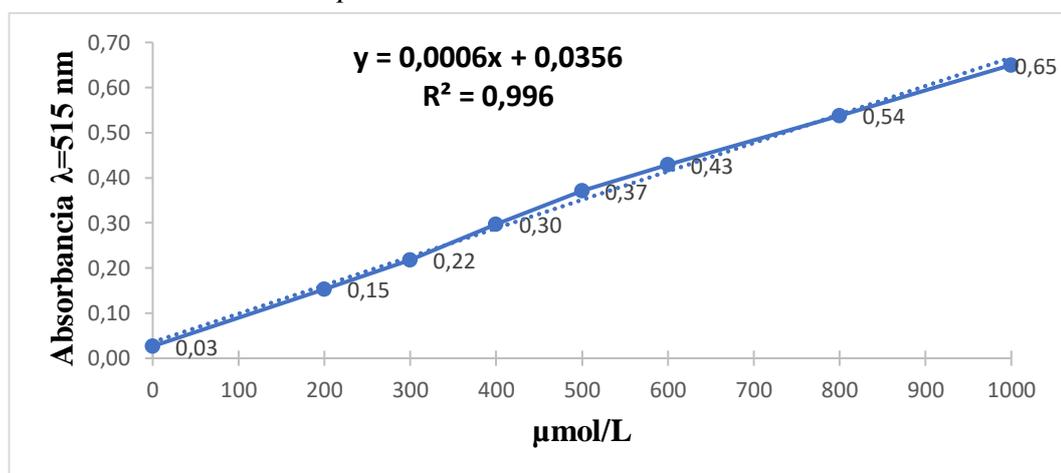
Mientras que en la investigación realizada por Bedoya & Maldonado (2021) se reportaron valores que oscilan entre 5,22 a 17,8 $\mu\text{mol ET/g}$ muestra, los cuales no sobresalen a comparación de los resultados de la presente investigación, esto se debe a que no son las mismas variedades analizadas, y cada cual dará un resultado totalmente distinto.

4.1.5.3. Resultados del método DPPH

En la determinación de la capacidad antioxidante por el método DPPH se usó una curva estándar de trolox (gráfico 16) en la que se midió la absorbancia a una longitud de onda de 515 nm de las distintas concentraciones de trolox en un rango de 0 a 1000 $\mu\text{mol/L}$. La capacidad antioxidante es expresada en $\mu\text{mol ET/g}$ muestra.

Gráfico 16

Curva estándar de trolox por DPPH.



En el gráfico 16 se indica los valores de absorbancia de las distintas concentraciones y que la ecuación de la línea de tendencia muestra una relación lineal entre la concentración de trolox y la absorbancia, dando como resultado: $y = 0,0006x + 0,0356$, con un $R^2 = 0,996$.

Tabla 25

Análisis de Varianza para $\mu\text{mol ET/g}$ muestra por DPPH - Suma de Cuadrados Tipo III.

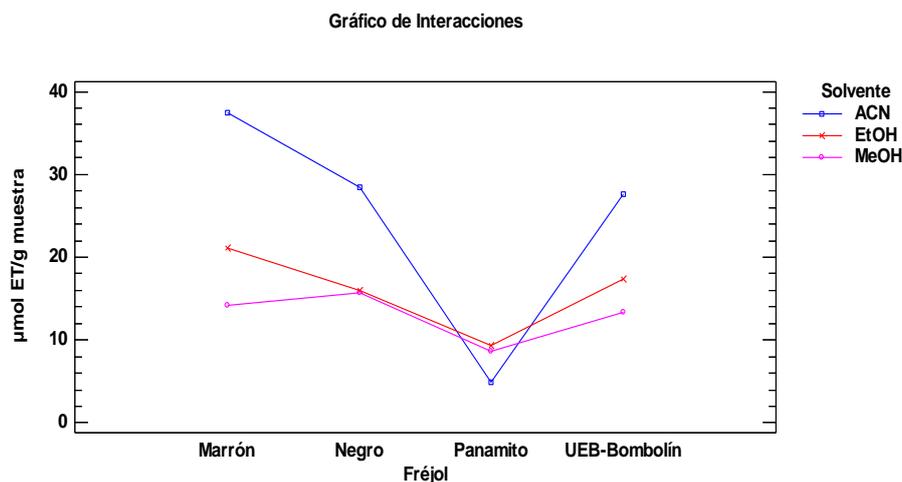
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS					
A: Fréjol	1371,56	3	457,186	358,23	0,0000**
B: Solvente	882,888	2	441,444	345,90	0,0000**
INTERACCIONES					
AB	654,853	6	109,142	85,52	0,0000**
RESIDUOS	30,6295	24	1,27623		
TOTAL	2939,93	35			

**Diferencia estadística altamente significativa.

La tabla 25 indica que los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que los 3 valores-P son menores que 0,05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre $\mu\text{mol ET/g}$ muestra con un 95,0% de nivel de confianza. Explicando que la capacidad antioxidante presente en cada tratamiento depende de la variedad de fréjol y el solvente que se utilice al momento de la preparación de cada uno de los tratamientos.

Gráfico 17

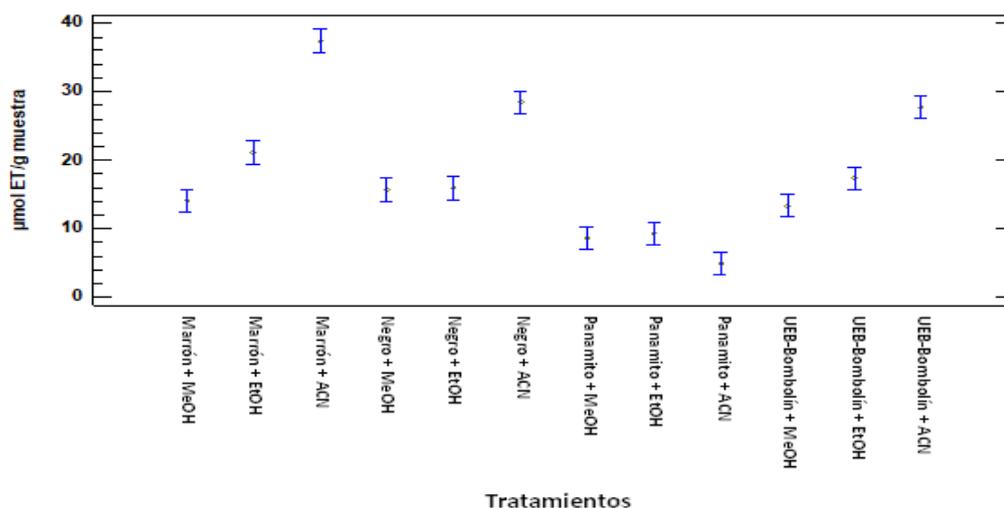
Interacción de la determinación de antioxidantes totales entre variedad de fréjol (Factor A) y tipos de solvente (Factor B) en DPPH.



El gráfico 17 representa los resultados de interacción de la capacidad antioxidante en las diferentes variedades de fréjol y solvente, donde nos especifica del lado posterior derecho su tipo de solventes y el significado del color en el gráfico. Indicando que las líneas de tendencia representan interacciones en donde la combinación Marrón + Acetonitrilo (a₁ b₃) tienen la mayor cantidad de antioxidantes totales, el cual está de coloración azul en la gráfica.

Gráfico 18

Análisis de medias para $\mu\text{mol ET/g}$ muestra por tratamientos en DPPH.



Nota: Tabla de medias elaborada por la metodología de Tukey HSD al 95,0%.

En el gráfico 18 se muestra un análisis de medias en el cual se aprecian los promedios de la variable en el rango de 0 a 40 $\mu\text{mol ET/g}$ muestra entre los distintos tratamientos, los cuales se pueden visualizar en la parte inferior del gráfico con cada uno de sus variedades y solventes demostrando que existe diferencia significativa en el mejor tratamiento.

Para finalizar con la determinación de la concentración de compuestos antioxidantes utilizando la técnica del DPPH, esta se presenta a continuación la prueba de rango múltiples para establecer el nivel de incidencia de cada uno de los 12 tratamientos en donde se puede determinar claramente las diferencias significativas que existen en las presentes muestras, considerando especialmente en los resultados experimentales.

Tabla 26

Prueba de Múltiples Rangos por metodología Tukey HSD al 95% de confianza para $\mu\text{mol ET/g}$ muestra por tratamientos en DPPH.

Tratamientos	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Panamito + ACN	3	4,92123	H
Panamito + MeOH	3	8,60752	G
Panamito + EtOH	3	9,32903	G
UEB-Bombolín + MeOH	3	13,3255	F
Marrón + MeOH	3	14,1175	FE
Negro + MeOH	3	15,693	ED
Negro + EtOH	3	15,9611	ED
UEB-Bombolín + EtOH	3	17,3972	D
Marrón + EtOH	3	21,0924	C
UEB-Bombolín + ACN	3	27,6826	B
Negro + ACN	3	28,484	B
Marrón + ACN	3	37,3816	A

La tabla 26 indica que el tratamiento Marrón + ACN (T3) fue de los más altos en antioxidantes totales presentando diferencia significativa ante los demás tratamientos. Estos valores están concuerdan con el análisis de Claros Osorio, (2021) ya que sus resultados oscilan de 5,08 a 37,04 $\mu\text{mol ET/g}$. De igual manera en el estudio realizado por Bedoya & Maldonado (2021) se puede apreciar resultados los cuales van desde 5,24 hasta 36,99 $\mu\text{mol ET/g}$ en grano entero de fréjol crudo, dando a entender de que los resultados son similares entre las 3 comparaciones realizadas.

4.1.6. Mejor tratamiento en antioxidantes.

De acuerdo con cada uno de los presentes datos obtenidos de los análisis realizados para la determinación de la actividad antioxidante, se puede destacar que el mejor

tratamiento fue el T3 (Fréjol marrón + Acetonitrilo) , debido a que fue uno de los más altos mediante el método ABTS y DPPH, sin embargo por medio del método FRAP quedó como el segundo más alto, esta diferencia se da debido a que la metodología varía para cada uno de los distintos análisis, puesto que el mecanismo del FRAP se da por medio de la transferencia de electrones, mientras que la forma de trabajar de los métodos ABTS y DPPH es por medio de la captura de radicales libres.

Según indica Hernández Guiance & Isern, (2019) que por medio del método FRAP la determinación de la capacidad antioxidante se da de forma indirecta, este se trata de un método espectrofotométrico ya que mide la absorbancia del ion ferroso (FE^{+2}), por lo tanto, mientras más antioxidante es la muestra de estudio, mayor será la reducción y más alta la señal de absorbancia.

4.1.7. Suplemento proteico

Para la obtención del suplemento proteico se trabajó por medio de la extracción por puntos isoeléctricos, el cual nos dio un rendimiento promedio de 17,58% por cada muestra extraída. Se realizó un análisis de proteína por el método DUMAS el cual indicó un promedio de 70,81% de proteína presente en el suplemento.

Para el consumo del suplemento se realizaron sobres con una dosificación de 10g, el cual debe ser disuelto en agua a temperatura ambiente y ser consumido una sola vez al día, cabe destacar que el tiempo de ingesta de proteínas ha aumentado en los últimos años, por lo tanto, según lo interpretado por Wirth, Hillesheim, & Brennan (2020) se debe promover una redistribución del consumo de proteínas principalmente durante 1 comida por día para distribuirse uniformemente durante todo el día.

CAPÍTULO V

5.1. CONCLUSIONES

- En base a un promedio estadístico se determinó que la variedad de fréjol UEB-Bombolin morfológicamente resultó ser el más grande, debido a su forma redondeada y no arriñonada oblonga como las demás variedades, destacando sus dimensiones ya que el grano cuenta con un mayor diámetro, dando como resultado un tamaño promedio de 12,10 mm el cual se determinó mediante un muestreo aleatorio.
- Mediante los análisis bromatológicos se determinó que el fréjol negro fue el mejor en fibra, cenizas y proteínas frente a las distintas variedades, seguido por el fréjol marrón, lo que demuestra que estos son los de mayor contenido nutricional.
- Los tratamientos T3 (Fréjol marrón + acetonitrilo) y T12 (Fréjol UEB-Bombolín + Acetonitrilo) fueron mejores en contenido de polifenoles, lo que demuestra que el mejor solvente ha sido el acetonitrilo debido a su capacidad para disolver compuestos polares, mientras que en flavonoides se destacaron los tratamientos T8 (Fréjol panamito + Etanol) y T2 (Fréjol marrón + Etanol), demostrando así que el etanol es el mejor solvente para la obtención de flavonoides debido a que los grupos hidroxilos de este solvente interactúan con los grupos hidroxilos de los flavonoides, y en antocianinas el tratamiento más alto fue el T6 (Fréjol negro + Acetonitrilo), aunque se destacaron todos los tratamientos de la variedad de fréjol negro (T4-T5-T6), esto se debe a que presentan tonalidades oscuras las cuales indican su alto contenido en antocianinas.
- El tratamiento T3 (Fréjol marrón + Acetonitrilo) destacó en la determinación de la actividad antioxidante mediante los métodos ABTS y DPPH, mientras que el tratamiento T6 (Fréjol negro + Acetonitrilo) resaltó en la determinación de la actividad antioxidante mediante el método FRAP, dando a entender que el mejor solvente ha sido el acetonitrilo en cada uno de los métodos empleados.

- Se concluyó que el mejor tratamiento rico en antioxidante es el T3 (Fréjol marrón + Acetonitrilo) debido a que se destacó mediante las metodologías ABTS y DPPH, por lo tanto se usó la variedad de fréjol marrón para la elaboración del suplemento proteico por medio de la extracción por puntos isoelectricos.

5.2. RECOMENDACIONES

- Implementar la cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) para la identificación exacta de los tipos de polifenoles, flavonoides y antocianinas presentes en la muestra a estudio.
- Poner en práctica otros tipos de análisis para la determinación de la actividad antioxidante.
- Abordar más variedades de fréjoles para poder realizar comparaciones entre sí.
- Añadir saborizantes al suplemento proteico para una mayor variedad de productos
- Elaborar un análisis para la determinación de la vida útil del suplemento proteico.
- Realizar, diseñar y plantear nuevos productos en los que se destaquen sus propiedades antioxidantes y proteicas.

BIBLIOGRAFÍA

- Adegboyega, T. T., Abberton, M. T., AbdelGadir, A., Mahamadi, D., Maziya Dixon, B., Oyatomi, A., Babalola, O. (2019). Composición de Nutrientes y Antinutrientes de Frijoles Alados (*Psofocarpus tetragonolobus* (L.) DC.) Semillas y Tubérculos. *Hindawi*.
- Aguayo Rojas, J., Rochín Medina, J., Mora Rochín, S., Navarro Cortez, R., Tovar Jimenez, X., Quiñones Reyes, G., & Ayala Luján, J. (2022). Contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de variedades de frijol sembradas en el estado de Zacatecas. *Acta Universitaria*.
- Aherm, K., Rajagopal, I., & Taralyn, T. (2022). *Dinámica de Membranas (FRAP) [Oregon State University]*.
- Almeida da Silva, S., Bridi, R., Arias-Santé, M., Rincón Cerveza, M., Meisel, A., Rhein, S., Costa de Camargo, A. (2024). Compuestos bioactivos fenólicos solubles e insolubles de la hoja de frijol Tortola y sus propiedades antioxidantes en ensayos basados en químicos y células Caco-2. *Science Direct*.
- Angulo, A. C. (2023). *Carbohidratos: Qué son, tipos y valor nutricional*. Obtenido de nutricionfarmacia.com: <https://nutricionfarmacia.com/blog/deporte/carbohidratos/>
- Anino, C., Onyango, A. N., Imathiu, S., Maina, J., & Onyangore, F. (2019). Chemical composition of the seed and 'milk' of three common bean (*Phaseolus vulgaris* L) varieties. *Springer Link*.
- Arellano, M. (2020). *Enseña a tu hijo cómo nace una planta germinando un frijol (poroto)*. Obtenido de PortalFruticola.com: <https://www.portalfruticola.com/noticias/2020/09/11/ensena-a-tu-hijo-como-nace-una-planta-germinando-un-frijol-poroto/>
- Azevedo Silva, F., Oliveira Vieira, V., Correia da Silva, R., Guariz Pinheiro, D., & Soares, M. A. (2021). Introducción de *Trichoderma* cepas de Spp.biocontrol contra *Esclerotinia esclerotiorum* (Lib.) de Bary cambia la composición de la comunidad microbiana del suelo en el frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivo. *Science Direct*.

- Báez, M. (2022). *Alimentos con vitamina B1*. Obtenido de mundodeportivo.com: <https://www.mundodeportivo.com/uncomo/salud/articulo/alimentos-con-vitamina-b1-52367.html>
- Barder, T., Kabisch, S., H. Pfeiffer, A., & Weickert, M. (2020). Los Beneficios para la Salud de la Fibra Dietética. *National Library of Medicine*.
- Bedoya, R. A., & Maldonado, M. E. (2022). Características nutricionales y antioxidantes de la especie de frijol petaco (*Phaseolus coccineus*). *Scielo*, 36. doi:10.4067/S0717-75182022000100034
- Bedoya, R., & Maldonado, M. (2021). Características nutricionales y antioxidantes de la especie de frijol petaco (*Phaseolus coccineus*). *scielo.cl*, 35. doi:http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182022000100034
- Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 71. doi:https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292.
- Berlanga, C. (2020). *Beneficios de los aminoácidos esenciales*. Obtenido de farmaciariibera.es:https://farmaciariibera.es/blog/beneficios-de-los-aminoacidos-esenciales/
- Blandón Navarro, S. L., & Larios López, X. J. (2019). Evaluación de sustitución parcial de harina de trigo por harina de frijol *Phaseolus vulgaris* L. en la formulación de tortas. *Revista Científica de Ciencia y Tecnología El Higo*.
- Calderon Jaramillo, K. (2022). *Principales arvenses que influyen en el cultivo de frijol Phaseolus vulgaris L. en la zona andina Ecuatoriana*. [Tesis de Ingeniería, Universidad Técnica de Machala]. Repositorio Institucional. Obtenido de <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/19801>
- Carmona, M. V. (2023). *Implementación de un sistema de producción de frijol (Phaseolus vulgaris) variedad cargamanto rojo como alternativa de diversificación agrícola en el municipio de Pueblorrico Antioquia*. [Tesis de ingeniería, Universidad de La Salle, Bogotá]. Repositorio institucional. Obtenido de https://ciencia.lasalle.edu.co/ingenieria_agronomica/298
- Chávez Santoscoy, R., Gutiérrez Uribe, J., Serna Saldivar, S., & Pérez Carrillo, E. (2015). Producción de tortillas de maíz y galletas a partir de harina

- nixtamalizada enriquecida con antocianinas, flavonoides y saponinas extraídas de frijol negro (*Phaseolus vulgaris*) capas de semillas. *Science Direct*.
- Chu, L., Zheng, W., Wang, J., Wang, Z., Zhao, W., Zhao, B., Zhou, Y. (2023). Análisis comparativo de la diferencia en la vía metabólica de los flavonoides durante la coloración entre cereza dulce roja-amarilla y roja (*Avium prunus* L.). *Science Direct*.
- Claros Osorio, P. (2021). Evaluacion de la capacidad antioxidante total y contenido de polifenoles totales del phaseolus vulgaris "frijol" [tesis de Ingenieria, Universidd Nacional José Faustino Sánchez Cabrión]. *Repositorio institucional*. Obtenido de <http://hdl.handle.net/20.500.14067/5297>
- Corzo Ríos, L. J., Sánchez Chino, M., Cardador Martínez, A., Martínez Herrera, J., & Jiménez Martínez, C. (2020). Efecto de la cocción sobre compuestos nutricionales y no nutricionales en dos especies de Faseolo (*P. vulgaris* y *P. coccineus*) cultivado en México. *Science Direct*.
- Curay Palate, J. D. (2019). *Evaluación agronómica de tres variedades de Fréjol arbustivo (Phaseolus vulgaris L.) bajo las condiciones climáticas de la comunidad de Rumichaca del cantón Pelileo. [Tesis de Ingenieria, Universidad Técnica de Ambato]*. Repositorio institucional. Obtenido de <http://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/30037>
- Díaz Muñoz, M. (2021). *Estudio comparativo de los métodos dpph y abts para la determinación de la actividad antioxidante de la pulpa de maracuyá (Passiflora edulis) [Tesis de Ingenieria, Universidad de Guayaquil]*. Repositorio Instiucional. Obtenido de <http://repositorioug.edu.ec/handle/redug/58435>
- Didinger, C., & Thompson, H. (2021). Definición de nichos nutricionales y funcionales de legumbres: un llamado a la claridad para distinguir un papel futuro para las legumbres en las pautas dietéticas para los estadounidenses. *MDPI*.
- Didinger, C., T.Foster, M., Bunning, M., & J. Thompson, H. (2022). Beneficios de Nutrición y Salud Humana de Frijoles Secos y Otras Legumbres. *Wiley*.

- Dugdale, D. C. (2023). *Tiamina*. Obtenido de MedlinePlus: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/002401.htm>
- Dumas Verduga, F. (2022). *Información nutricional y actividad biológica del frijol (Phaseolus vulgaris L.) [Tesis de ingeniería, Universidad Técnica de Ambato]*. repositorio institucional. Obtenido de <https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/34927>
- Feng, Q., Niu, Z., Zhang, S., Wang, L., Dong, L., Hou, D., & Zhou, S. (2023). Efectos Protectores del Frijol Renal Blanco (*Phaseolus vulgaris* L.) Contra la Esteatosis Hepática Inducida por la Dieta en Ratones Están Vinculados a la Modificación de la Microbiota Intestinal y sus Metabolitos. *MDPI*.
- Fennema, O., & Tannenbaum, S. (1993). *Introducción a la química de los alimentos*.
- Fonseca Hernández, D., Mojica, L., A. Berhow, M., Brownstein, K., Lugo Cervantes, E., & González de Mejía, E. (2023). Frijoles negros y pintos (*Phaseolus vulgaris* L.) variedades mexicanas únicas exhiben potencial antioxidante y antiinflamatorio. *Science Direct*.
- Fuentes, E., Rodríguez, L., Méndez, D., Alarcón Espósito, J., Nina, N., Burgos Edwards, A., Schmeda Hirschmann, G. (2023). Inhibición de la agregación plaquetaria por extractos y compuestos de las hojas de variedades locales de frijol chileno (*Phaseolus vulgaris* L.). *Science Direct*.
- Ganjani, V., Bigham Sadegh, A., Ahmadi, N., Mohammad-Reza, D., Meimandi-Parizi, A., & Mohammad, A. (2024). Los posibles impactos profilácticos y terapéuticos de la niacina en la lesión por isquemia/reperfusión del testículo. *Science Direct*.
- Gómez, G., & Quesada, D. (2019). Proteínas de origen vegetal o de origen animal: Una mirada a su impacto sobre la salud y el medio ambiente. *Revista de Nutrición clínica y metabolismo*, 78-86. doi:<https://doi.org/10.35454/rncm.v2n1.063>
- Google Maps. (2023). *Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Estatal de Bolívar*. Obtenido de Google Maps: <https://www.google.com.ec/maps/@-1.6127922,-78.9973493,769m/data=!3m1!1e3?entry=ttu>

- Guerrero Wyss, L., & Durán Agüero, S. (2020). Consumo de legumbres y su relación con enfermedades crónicas no transmisibles. *Scielo*.
- Gutiérrez Pulido, H., & De la Vara Salazar, R. (2008). *Análisis y diseño de experimentos*. Mc Graw Hill.
- Hernández Guiance, S., & Isern, D. (2019). Estudio cuantitativo y comparativo de la actividad antioxidante total en soja por método FRAP. *Dialnet*.
- Huertas, R., Allwood, J. W., D. Hancock, R., & Stewart, D. (2022). Iron and zinc bioavailability in common bean (*Phaseolus vulgaris*) is dependent on chemical composition and cooking method. *Science Direct*.
- Johnson, L. E. (2022). Introducción a las vitaminas [University of Arkansas for Medical Sciences]. *Manual MSD*.
- Kajiwarra, V., Moda Cirino, V., & dos Santos Escolz, M. B. (2021). The influence of chemical composition diversity in the cooking quality of Andean bean genotypes. *Science Direct*.
- Khrisanapant, P., Biniam, K., Sze Ying, L., & Indrawati, O. (2019). Una Caracterización Integral de Perfiles de Ácidos Volátiles y Grasos de Semillas de Legumbres. *MPDI*.
- Ladrillo, M., Kleintop, A., Dimas, E., Sara, K., Ladrillo, L., Osorno, J., Thompson, H. (2022). Frijol Seco: Un Superalimento Rico en Proteínas con Características de Carbohidratos que Puede Cerrar la Brecha de Fibra Dietética. *frontiers*.
- Lin, J., Yang, J., Shen, M., Yu, Q., Chen, Y., & Xie, J. (2024). Efecto de las nanofibrillas de celulosa sobre la estabilidad y las propiedades digestivas de las emulsiones basadas en proteínas de leguminosas. *Science Direct*.
- López, T. (2002). Flavonoides. *Elsevier*.
- M McKeown, N., Fahey Jr, G., Slavin, J., & van der Kamp, J.-W. (2022). Ingesta de fibra para una salud óptima: ¿cómo pueden los profesionales de la salud ayudar a las personas a alcanzar las recomendaciones dietéticas? *BMJ*.
- Ma, C., Feng, Y., Zhou, S., Zhang, J., Guo, B., Xiong, Y., Li, C. (2023). La metabolómica y la transcriptómica proporcionan información sobre los mecanismos moleculares de la acumulación de antocianinas en la capa de

- semillas de frijol mungo de diferentes colores (*Radiota vigna* L.). *Science Direct*.
- Manetti, S. (2022). *Tendencias en alimentos saludables - frijoles y legumbres*. Obtenido de medlineplus.gov: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/patientinstructions/000726.htm>
- Mejía Reyes, J., García Cabrera, K., Valásquez Ovalle, G., & Vázquez Ovando, A. (2021). Capacidad antioxidante: conceptos, métodos de cuantificación y su aplicación en la caracterización de frutos tropicales y productos derivados. *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*.
- Melara, J. (2022). *Frijoles: conoce los increíbles beneficios que este alimento tiene para tu salud*. Obtenido de cocinafacil.com.mx: <https://www.cocinafacil.com.mx/salud-y-nutricion/10-beneficios-de-comer-frijoles>
- Melini, F., Lisciani, S., Emanuela, C., Marconi, S., & Melini, V. (2023). Efecto de la Cocina sobre el Contenido de Compuestos Fenólicos y la Bioaccesibilidad In Vitro en Alimentos Sostenibles: Un Estudio de Caso sobre Frijoles Negros. *MDPI*.
- Mencía Guevara, A., Villalobos Moya, K., Rubí Zeledón, J., Granados Rojas, L., Hernández Aguirre, C., & Brenes Monge, H. (2020). Evaluación de propiedades fisicoquímicas del frijol costarricense (*Phaseolus vulgaris*) como estrategia de diferenciación y valorización. *Perspectivas rurales*.
- Merga, J. T. (2020). Evaluación de variedades comunes de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) a diferentes espacios entre filas en Jimma, South Western Ethiopia. *Science Direct*.
- Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2015). *Entregan certificación de nueva variedad de fréjol en Bolívar*. Recuperado el 17 de Junio de 2023, de Ministerio de Agricultura y Ganadería: <https://www.agricultura.gob.ec/entregan-certificacion-de-nueva-variedad-de-frejol-en-bolivar-2/>
- Mojica, L., Ramos López, A. S., Sánchez Velázquez, O. A., Gómez Ojeda, A., & Luevano Contreras, C. (2024). Frijoles negros (*Phaseolus vulgaris* Los hidrolizados de proteínas L.) reducen los niveles agudos de glucosa postprandial en adultos con prediabetes y tolerancia normal a la glucosa. *Science Direct*.

- Monge, M. S. (2023). *Vitaminas del grupo B: funciones y alimentos en los que se encuentran*.
- Montoya, A. N. (2023). *Efectos de los polifenoles en la salud humana*. Pereira: Universidad libre Colombia.
- Mubai, S., Da, L., Mei, H., Xinyu, M., Ying, S., Yanping, C., Jinghui, W. (2023). Análisis del efecto de alivio de las antocianinas de cáscara de frijol negro en la diabetes tipo 2 basado en la microbiota intestinal y el metaboloma sérico. *Science Direct*.
- Nieto, M. (2021). *Minerales, importancia en nuestro cuerpo*. Obtenido de MARNYS: <https://www.marnys.com/es/magazine/minerales-importantes-cuerpo/#/>
- Nina, N., Teoduloz, C., Paillán, H., Jiménez Aspee, F., Márquez, K., Schuster, K., Schmeda Hirschmann, G. (2023). Perfil químico y bioactividad de las variedades autóctonas de frijol chileno (*Phaseolus vulgaris* L.). *Science direct*.
- Pérez Pérez, L., Del Toro Sánchez, C., Sánchez Chavez, E., González Vega, R., Reyes Díaz, A., Borboa Flores, J., Flores Cordova, M. (2020). Bioaccesibilidad de compuestos antioxidantes de diferentes variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en México, mediante un sistema gastrointestinal in vitro. *Biotecnia*.
- Piñuel, L. (2019). Extracción de concentrado de proteína de frijol rojo (*Phaseolus vulgaris* L.): actividad antioxidante e inhibición de la peroxidación lipídica. *CrossMark*, 47.
- Piñuel, L., Vilcacundo, E., Boeri, P., Barrio, D. A., Morales, D., Pinto, A., Carrillo, W. (2019). Extraction of protein concentrate from red bean (*Phaseolus vulgaris* L.): antioxidant activity and inhibition of lipid peroxidation. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 47. doi:10.7324/JAPS.2019.90804
- Porto, P. (2021). *Frijol-Qué es, definición, características e importancia*. Obtenido de definicion.de: <https://definicion.de/frijol/>

- Quesada, D., & Gómez, G. (2019). ¿Proteínas de origen vegetal o de origen animal? *Nutrición clínica metabolismo*, 80.
doi:<https://doi.org/10.35454/rncm.v2n1.063>
- Ramos Escudero, F., Muñoz, A., Alvarado Ortíz, C., Alvarado, Á., & A. Yáñez, J. (2012). Purple Corn (*Zea mays* L.) Phenolic Compounds Profile and Its Assessment as an Agent Against Oxidative Stress in Isolated Mouse Organs. *Korean Society of Food Science and Nutrition*.
- Ramos Lalaleo, E. (2019). *Extracción y Microencapsulación de antocianinas a partir de col morada (Brassica oleracea L.) [Tesis de Ingeniería, Universidad Técnica de Ambato]*. Repositorio institucional. Obtenido de <http://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/29999>
- Retana, C. M. (2019). *¿Qué son los lípidos y para qué sirven?* Obtenido de geosalud.com: <https://www.geosalud.com/nutricion/tipos-de-lipidos.html>
- Rhonda S., S., Fanelli Kuczmariski, M., Wilkinson Enns, C., Goldman, J., Murayi, T., J. Moshfegh, A., K. Evans, M. (2021). Aplicación de la Base de Datos de Valores Flavonoides para los Códigos de Alimentos del USDA 2007–2010 en la evaluación de las diferencias de ingesta entre el Envejecimiento Saludable en Barrios de Diversidad a lo largo del estudio Life Span (HANDLS). *Science Direct*.
- Rochín Medina, J., Mora Rochín, S., Navarro Cortez, R., Tovar Jimenez, X., Quiñones Reyes, G., Ayala Luján, J., & Aguayo Rojas, J. (2021). Contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de variedades de frijol sembradas en el estado de Zacatecas. *SciELO*.
- Rodríguez Espinosa, E., Cristensen, D., Newkirk, W., Ai, Y., & Yu, P. (2024). Impacto del tiempo de tostado de presión de vapor en las proporciones de hélice alfa a lámina beta, valor nutricional, subfracciones de proteínas y carbohidratos y parámetros de fermentación ruminal de semillas de frijol Faba para ganado lechero. *Science Direct*.
- Rodríguez Madrina, R., & Suárez Valles, B. (2020). Desarrollo y validación de extracción asistida por ultrasonido (EAU) y método HPLC-DAD para la determinación de polifenoles en frijoles secos (*Phaseolus vulgaris*). *Science Direct*.

- Rodríguez Mena, A., Ochoa Martínez, L., González Herrera, M., Rutiaga Quiñones, M., González Laredo, R., Begoña Olmedilla, A., & Vega Maturino, S. (2023). Potencial de coloración de antocianinas de pasta de batata púrpura: Extracción asistida por ultrasonido, actividad enzimática, color y su aplicación en estallidos de hielo. *Science Direct*.
- Rodríguez, S., Fierro, A., & Jiménez, V. (2021). "Caracterización de la diversidad morfológica de flores y semillas del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) silvestre y domesticado, en la Costa Grande de Guerrero". 5.
- Rodríguez Madrera, R., Campa Negrillo, A., Suárez Valles, B., & Ferrerira Fernández, J. (2021). Contenido Fenólico y Actividad Antioxidante en Semillas de Frijoles Comunes (*Phaseolus vulgaris* L.). *MDPI*.
- Romero, S. C. (2017). *Producción y comercialización de fríjol caupí (Vigna unguiculata) tecnificado como modelo demostrativo en el municipio de Guaranda Sucre*. Casanare: Universidad de La Salle. Obtenido de https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1012&context=ingenieria_agronomica
- Ruiz Benitez, M. (2020). *Determinación de la actividad antioxidante [Guía de laboratorio, Universidad Simón Bolívar]*. Repositorio Institucional. Obtenido de <https://hdl.handle.net/20.500.12442/7986>
- Sainan, M., Ruchang, H., Jieyu, M., Jinwan, F., Feifei, W., Yang, W., Xinquán, Z. (2022). El análisis integrador del metaboloma y el transcriptoma proporciona información sobre los mecanismos de biosíntesis de antocianinas y proantocianidinas en *Trifolium repens*. *Science Direct*.
- Saldaña, M. D., Rodriguez, E., Sekhon, J., & Hung, V. (2021). The effect of different pressurized fluids on the extraction of anthocyanins and total phenolics from cranberry pomace. *Elsevier*, 175, 3. doi:<https://doi.org/10.1016/j.supflu.2021.105279>
- Sarker, A., Chakraborty, S., & Roy, M. (2020). Frijol rojo oscuro (*Phaseolus vulgaris* Los hidrolizados de proteínas L.) inhiben el crecimiento de sustancias oxidantes en el yogur natural. *Science Direct*.
- Shimshoni, S., Barransi-Karkaby, K., Yanuka-Golub, K., Azaizeh, H., Hassanina, M., & Sabbah, I. (2024). Los adsorbentes conductores mejoran la

eliminación de fenol de las aguas residuales mediante el proceso de biodegradación anaeróbica basado en "DIET" de transferencia de electrones entre especies directa. *Science Direct*.

- Simbaña Simba, E. (2022). *Leguminosas: evaluación de sus compuestos nutricionales y bioactivos [Tesis de ingeniería, Universidad de Ambato]*. repositorio institucional. Obtenido de <https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/36544>
- Solano Cervantes, F., Díaz Ruiz, R., Jacinto Hernández, C., Aguirre Álvarez, L., & Huerta de la Peña, A. (2009). Prácticas agrícolas, descripción morfológica, proteínica y culinaria del grano de cultivares de frijol sembrados en la región de Tlatzala, Guerrero. *Ra Ximha*.
- Tabango Méndez, E. E. (2021). "Caracterización de variedades nativas de fréjol (*Phaseolus vulgaris* L.), procedentes del banco nacional de germoplasma del iniap, en el cantón cotacachi provincia de Imbabura" [Tesis de Ingeniería, Universidad Técnica del Norte]. *Repositorio institucional*. Obtenido de <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/11168>
- Tang, J., Cui, L., Zhang, S., Wang, L., Hou, D., & Zhou, S. (2023). Una nueva alternativa de leche a base de plantas hecha de frijol rojo (*Phaseolus vulgaris* L.): Efectos de los cultivares en su estabilidad y propiedades sensoriales. *Science Direct*.
- Tapia Yáñez, L., Macías Hernández, D., Morán Sánchez, N., Narea Sánchez, F., & Morán Caicedo, I. (2019). Comparación de métodos control de la mosca blanca (*Bemisia tabaci*. Gennadius) en fréjol (*Phaseolus vulgaris* L.) en Vinces, Ecuador. *Pro-Sciences: Revista de producción, ciencias e investigación*. .
- Tiwari, U., & Cummins, E. (2021). Capítulo 7 - Caracterización de fibra de leguminosas, funcionalidad y efectos de proceso. *Science Direct*.
- Tizazú, A., & Bekele, T. (2024). Una revisión sobre las aplicaciones medicinales de los flavonoides de aloe especies. *Science Direct*.
- Urias Saucedo, A. L., Ponce Fernandez, N. E., Lopez, P. G., & Dominguez, C. R. (2019). Chemical composition of different formulations of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) sarazo consumed in Sinaloa. *MedCrave*.

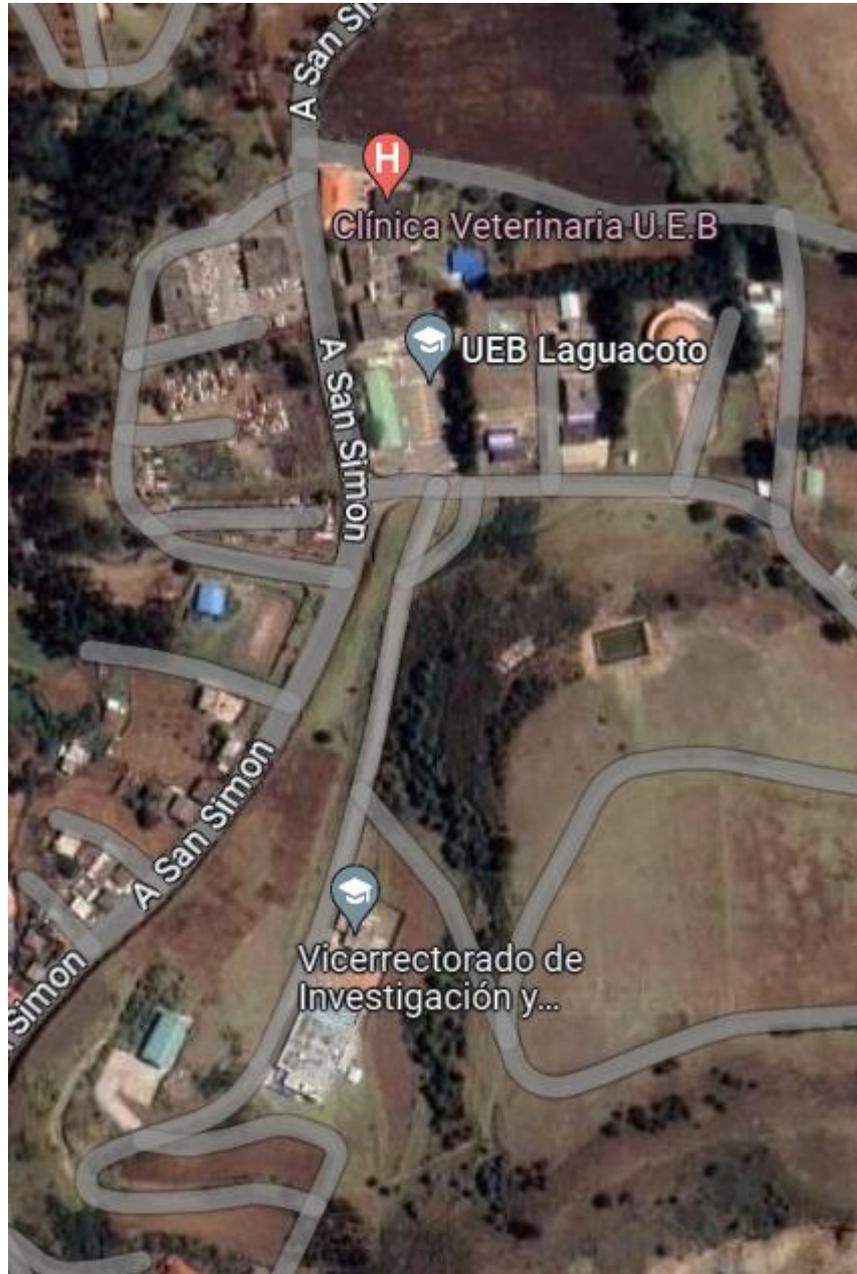
- Vilcacundo, E., García, A., Vilcacundo, M., Morán, R., Samaniego, I., & Carrillo, W. (2020). Antioxidant Purple Corn Protein Concentrate from Germinated Andean Purple Corn Seeds. *agronomy*.
- W. Brand-Williams, M. E. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28, 25. doi:[https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Wirth, J., Hillesheim, E., & Brennan, L. (2020). Los roles para la proteína . *El Papel de la Ingesta de Proteínas y su Tiempo en la Composición Corporal y la Función Muscular en Adultos Saludables: Una Revisión Sistemática y un Meta-Análisis de Ensayos Controlados Aleatorios*.
- Xia, X., Chen, K., & Chen, Y. (2024). Cambio en la función y homeostasis del eje HPA: El papel de la familia de las vitaminas. *Science Direct*.
- Xu, G., Cheng, K., Liu, M., & Conggang, L. (2024). Estudiar la estabilidad de proteínas en entornos abarrotados por RMN. *Science Direct*.
- Yang, Q., Gu, C., Zhang, X., Hu, X., Li, M., Guan, W., Gao, H. (2024). La investigación sobre el mecanismo metabólico de los polifenoles de frijol negro entero inducidos por iones de calcio y las actividades biológicas. *Science Direct*.
- Yang, Y., Él, S., Zhang, Y., Li, X., Liu, H., Li, Q., Sol, H. (2021). Comparación de prolaminas crudas de siete frijoles (*Phaseolus vulgaris* L.) basado en composición, estructura y funcionalidad. *Science Direct*.
- Yates, H., Carter, J., Hungerford, N., & Fletcher, T. (2023). Cromatografía iónica y cromatografía iónica /espectrometría de masas como técnica de análisis complementaria para el análisis de aminoácidos en alimentos, una revisión. *Science Direct*.
- Yeasmin, F., Prasad, P., & Sahu, K. J. (2024). Efecto del ultrasonido sobre las propiedades fisicoquímicas, funcionales y antioxidantes del frijol rojo (*Phaseolus vulgaris* L.) extracto de proteínas. *Science Direct*.
- Zavala, J. F. (2021). *El frijol se originó en Mesoamérica*. Obtenido de eloficiodehistoriar.com: <https://eloficiodehistoriar.com.mx/2021/01/21/el-frijol-se-origino-en-mesoamerica/>

- Zhang, Q., Wang, S., Xu, J., Zhao, W., Yang, Y., Wang, L., . . . Du, Y. (2023). Identificación en todo el genoma de miembros de la familia de la citoquinina oxidasa en frijol común (*Phaseolus vulgaris*): identificación, filogenia, expansión y análisis de patrones de expresión en la etapa de brote bajo estrés abiótico. *Science Direct*.
- Zhou, T., Li, H., Shang, M., Sun, D., Liu, C., & Che, G. (2021). Metodologías analíticas recientes y tendencias analíticas para la riboflavina (vitamina B2) análisis en muestras alimentarias, biológicas y farmacéuticas. *Science Direct*.

ANEXOS

Anexo 1

Mapa de ubicación de la investigación



Nota. Tomado de Google Maps, (2023)

Anexo 2

Análisis bromatológicos de la materia prima.

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN Laguacoto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador	Código	FPG12-01
	INFORME DE RESULTADOS	Versión	1
		Año	2023
		Página	Página 1 de 1

INFORME N° 240-2023

DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA						
Solicitante	Melanie Dayanna Molina Penagos y Tarciso Jeancarlo Ramírez Vera					
Muestra	Harinas de: fréjol marrón, fréjol negro, fréjol bombolín y fréjol panamito					
Código asignado UEB	INV- 459; INV- 460; INV- 461; INV- 462					
Estado de la muestra	sólido					
Envase de recepción	Frasco plástico					
Análisis requerido(s)	Porcentaje de Proteína total					
Fecha de recepción	25/09/2023					
Fecha de análisis	04/10/2023					
Fecha de informe	10/10/2023					
Técnico (s) asignado	MIPV					
RESULTADOS OBTENIDOS						
Código de laboratorio	Muestra	Parámetros	Unidad	Método	Resultado	Promedio
INV- 459	Fréjol marrón – R1	Porcentaje de proteína total	%	Dumas	22,75	22,85
	Fréjol marrón – R2				23,06	
	Fréjol marrón – R3				22,75	
INV- 460	Fréjol negro – R1	Porcentaje de proteína total	%	Dumas	23,81	23,94
	Fréjol negro – R1				24,06	
	Fréjol negro – R1				23,94	
INV- 461	Fréjol bombolín – R1	Porcentaje de proteína total	%	Dumas	22,31	22,25
	Fréjol bombolín – R2				22,19	
	Fréjol bombolín – R3				22,25	
INV- 462	Fréjol panamito – R1	Porcentaje de proteína total	%	Dumas	16,75	16,58
	Fréjol panamito – R2				16,44	
	Fréjol panamito – R3				16,56	

Las muestras son realizadas con tres réplicas




Dr. Favian Bayas Morejón
Director DIVIUEB

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIO DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS Y FITOQUÍMICA <small>Laguacoto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.</small>	Versión	1
	INFORME DE RESULTADOS	Año	2023
		Página	Página 1 de 3

INFORME DE ENSAYOS N°262

DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA					
Solicitante	Melanie Molina – Tarciso Ramírez				
Muestra	Harina de fréjol marrón, Harina de fréjol negro, Harina de fréjol bombolín UEB, Harina de fréjol panamito				
Código asignado UEB	INV459 - INV 460 - INV 461 - INV 462				
Estado de la muestras	Sólido				
Envase de recepción	Frascos plásticos				
Análisis requerido(s)	Humedad, ceniza, fibra, grasa				
Fecha de recepción	17 de octubre de 2023				
Fecha de análisis	17-20 de octubre de 2023				
Fecha de informe	23 de octubre de 2023				
Técnico (s) asignado	MPWF				
RESULTADOS OBTENIDOS					
PARAMETROS BROMATOLÓGICOS					
Código laboratorio	Muestra	Parámetro	Unidad	Método	Resultado
INV-459	Harina de frejol marrón	Fibra	%	WEENDE	14,67
					15,31
					15,31
		Humedad	%	AOAC 925.10	11,25
					11,11
					10,98
		Ceniza	%	AOAC 923.03	4,06
					3,95
					4,07
		Grasa	%	AOAC 2003.06	1,26
					1,18
					1,08
INV-460		Fibra	%	WEENDE	23,95
					24,78

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIO DE ANALISIS DE ALIMENTOS Y FITOQUÍMICA <small>Laguacoto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.</small>		Versión	1
	INFORME DE RESULTADOS		Año	2023
			Página	Página 2 de 3

	Harina de frejol negro	Humedad	%	AOAC 925.10	23,95
					12,00
					11,86
					11,94
		Ceniza	%	AOAC 923.03	4,54
					4,58
					4,63
		Grasa	%	AOAC 2003.06	1,33
					1,33
					1,33
INV-461	Harina de frejol bombolín UEB	Fibra	%	WEENDE	9,86
					9,86
					9,86
		Humedad	%	AOAC 925.10	13,08
					13,08
					13,05
		Ceniza	%	AOAC 923.03	4,32
					4,19
					4,21
		Grasa	%	AOAC 2003.06	1,10
1,15					
1,10					
INV-462	Harina de frejol panamito	Fibra	%	WEENDE	12,23
					12,58
					12,23
		Humedad	%	AOAC 925.10	12,04
					11,97
					12,04
		Ceniza	%	AOAC 923.03	4,34
					4,38
					4,37

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIO DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS Y FITOQUÍMICA <small>Laguacoto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.</small>	Versión	1
	INFORME DE RESULTADOS	Año	2023
		Página	Página 3 de 3

		Grasa	%	AOAC 2003.06	1,26
					1,26
					1,26

Los resultados de los análisis corresponden a 3 determinaciones por análisis y a tres diluciones.



Ing. Favián Bayas, PhD.
Director DIVIUEB



Anexo 3

Cuantificación de polifenoles, flavonoides y antocianinas totales

UNIVERSIDAD ESTADAL DE BOLÍVAR VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN Laguacoto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.	Código	IR-PFTAA
	INFORME DE RESULTADOS	Versión	1
		Año	2023
		Página	Página 1 de 2

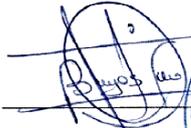
INFORME DE ENSAYOS N° 265

DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA					
Solicitante	Melanie Molina, Tarciso Ramírez				
Muestra	Extractos con solventes orgánicos de cuatro variedades de fréjol				
Código asignado UEB	INV 466, INV 467, INV 468, INV 469, INV 470, INV 471, INV 472, INV 473, INV 474, INV 475, INV 476, INV 477				
Estado de la muestra	Líquido				
Envase de recepción	Tubo de centrifuga con 25 ml de contenido de extracto				
Análisis requerido(s)	Polifenoles totales				
Fecha de recepción	27 de septiembre de 2023				
Fecha de análisis	02 de octubre de 2023				
Fecha de informe	26 de octubre de 2023				
Técnico (s) asignado	MFQM				
RESULTADOS OBTENIDOS					
Código de laboratorio	Muestra	Análisis	Método de análisis	Unidad	Resultado
INV 466	Extracto metanólico de fréjol marrón (T1)	Polifenoles totales	Folin Ciocalteu	mg Eq AG/g muestra	2,69
INV 467	Extracto etanólico de fréjol marrón (T2)				2,70
INV 468	Extracto acetonitrílico de fréjol marrón (T3)				4,28
INV 469	Extracto metanólico de fréjol negro (T4)				1,34
INV 470	Extracto etanólico de fréjol negro (T5)				1,60
INV 471	Extracto acetonitrílico de fréjol negro (T6)				2,90
INV 472	Extracto metanólico de fréjol panamito (T7)				1,58
INV 473	Extracto etanólico de fréjol panamito (T8)				1,93

 UNIVERSIDAD ESTADAL DE BOLÍVAR VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN <small>Laguacoto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.</small>	Código	IR-PFTAA
		Versión	1
		Año	2023
		Página	Página 2 de 2
INFORME DE RESULTADOS			

INV 474	Extracto acetonitrílico de fréjol panamito (T9)				1,76
INV 475	Extracto metanólico de fréjol bombolín (T10)				2,87
INV476	Extracto etanólico de fréjol bombolín (T11)				3,64
INV 477	Extracto acetonitrílico de fréjol bombolín (T12)				4,26

Los resultados de los análisis corresponden a 3 determinaciones por muestra.



Ing. Favian Bayas PhD.
Director DIVIUEB

UNIVERSIDAD ESTADAL DE BOLÍVAR VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN Laguacolo II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.	Código	IR-PFTAA
		Versión	1
	INFORME DE RESULTADOS	Año	2023
		Página	Página 1 de 2

INFORME DE ENSAYOS N° 266

DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA					
Solicitante	Melanie Molina, Tarciso Ramírez				
Muestra	Extractos con solventes orgánicos de cuatro variedades de fréjol				
Código asignado UEB	INV 466, INV 467, INV 468, INV 469, INV 470, INV 471, INV 472, INV 473, INV 474, INV 475, INV 476, INV 477				
Estado de la muestra	Líquido				
Envase de recepción	Tubo de centrifuga con 25 ml de contenido de extracto				
Análisis requerido(s)	Flavonoides totales				
Fecha de recepción	27 de septiembre de 2023				
Fecha de análisis	03 de octubre de 2023				
Fecha de informe	26 de octubre de 2023				
Técnico (s) asignado	MFQM				
RESULTADOS OBTENIDOS					
Código de laboratorio	Muestra	Análisis	Método de análisis	Unidad	Resultado
INV 466	Extracto metanólico de fréjol marrón (T1)	Flavonoides totales	Kumazawa et al., (2004)	mg Eq QE/g muestra	0,87
INV 467	Extracto etanólico de fréjol marrón (T2)				1,27
INV 468	Extracto acetoniúrico de fréjol marrón (T3)				0,90
INV 469	Extracto metanólico de fréjol negro (T4)				ND
INV 470	Extracto etanólico de fréjol negro (T5)				ND
INV 471	Extracto acetoniúrico de fréjol negro (T6)				ND
INV 472	Extracto metanólico de fréjol panamito (T7)				0,27
INV 473	Extracto etanólico de fréjol panamito (T8)				1,45

UNIVERSIDAD ESTADAL DE BOLÍVAR VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN Laguaquito II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.	Código	IR-PFTAA
		Versión	1
		Año	2023
		Página	Página 2 de 2

INV 474	Extracto acetonitrílico de fréjol panamito (T9)				0,26
INV 475	Extracto metanólico de fréjol bombolín (T10)				0,38
INV476	Extracto etanólico de fréjol bombolín (T11)				0,32
INV 477	Extracto acetonitrílico de fréjol bombolín (T12)				ND

Los resultados de los análisis corresponden a 3 determinaciones por muestra.



 Ing. Favian Bayas PhD
 Director DIVIUEB

 UNIVERSIDAD ESTADAL DE BOLIVAR VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN <small>Laguacoto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.</small>	Código	IR-PFTAA
	INFORME DE RESULTADOS	Versión	1
		Año	2023
		Página	Página 1 de 2

INFORME DE ENSAYOS N° 264

DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA					
Solicitante	Melanie Molina, Tarciso Ramírez				
Muestra	Extractos con solventes orgánicos de cuatro variedades de fréjol				
Código asignado UEB	INV 466, INV 467, INV 468, INV 469, INV 470, INV 471, INV 472, INV 473, INV 474, INV 475, INV 476, INV 477				
Estado de la muestra	Líquido				
Envase de recepción	Tubo de centrifuga con 25 ml de contenido de extracto				
Análisis requerido(s)	Antocianinas totales				
Fecha de recepción	27 de septiembre de 2023				
Fecha de análisis	27 de septiembre de 2023				
Fecha de informe	26 de octubre de 2023				
Técnico (s) asignado	MFQM				
RESULTADOS OBTENIDOS					
Código de laboratorio	Muestra	Análisis	Método de análisis	Unidad	Resultado
INV 466	Extracto metanólico de fréjol marrón (T1)	Antocianinas totales	pH diferencial (AOAC 2005)	mg Cy3GE/g muestra	65,61
INV 467	Extracto etanólico de fréjol marrón (T2)				177,80
INV 468	Extracto acetónitrílico de fréjol marrón (T3)				145,16
INV 469	Extracto metanólico de fréjol negro (T4)				395,40
INV 470	Extracto etanólico de fréjol negro (T5)				231,61
INV 471	Extracto acetónitrílico de fréjol negro (T6)				507,91
INV 472	Extracto metanólico de fréjol panamito (T7)				ND
INV 473	Extracto etanólico de fréjol panamito (T8)				90,90

 UNIVERSIDAD ESTADAL DE BOLÍVAR VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN <small>Laguacoto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.</small>		Código	IR-PFTAA
			Versión	1
			Año	2023
	INFORME DE RESULTADOS		Página	Página 2 de 2

INV 474	Extracto acetonitrílico de fréjol panamito (T9)				75,97
INV 475	Extracto metanólico de fréjol bombolín (T10)				13,86
INV476	Extracto etanólico de fréjol bombolín (T11)				138,88
INV 477	Extracto acetonitrílico de fréjol bombolín (T12)				153,61

Los resultados de los análisis corresponden a 3 determinaciones por muestra.



Ing. Favran Bayas PhD.
Director DIVIUEB

Anexo 4

Determinación de la capacidad antioxidante

UNIVERSIDAD ESTADAL DE BOLÍVAR VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN Laguacolo II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.	Código	IR-PFTAA
	INFORME DE RESULTADOS	Versión	1
		Año	2023
		Página	Página 1 de 2

INFORME DE ENSAYOS N° 267

DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA					
Solicitante	Melanie Molina, Tarciso Ramírez				
Muestra	Extractos con solventes orgánicos de cuatro variedades de fréjol				
Código asignado UEB	INV 466, INV 467, INV 468, INV 469, INV 470, INV 471, INV 472, INV 473, INV 474, INV 475, INV 476, INV 477				
Estado de la muestra	Líquido				
Envase de recepción	Tubo de centrifuga con 25 ml de contenido de extracto				
Análisis requerido(s)	Actividad antioxidante				
Fecha de recepción	27 de septiembre de 2023				
Fecha de análisis	05 de octubre de 2023				
Fecha de informe	26 de octubre de 2023				
Técnico (s) asignado	MFQM				
RESULTADOS OBTENIDOS					
Código de laboratorio	Muestra	Análisis	Método de análisis	Unidad	Resultado
INV 466	Extracto metanólico de fréjol marrón (T1)	Actividad antioxidante	ABTS (Acido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin a)-6- sulfónico)	µmol ET/g muestra	56,69
INV 467	Extracto etanólico de fréjol marrón (T2)				40,03
INV 468	Extracto acetonitrílico de fréjol marrón (T3)				73,49
INV 469	Extracto metanólico de fréjol negro (T4)				27,97
INV 470	Extracto etanólico de fréjol negro (T5)				37,82
INV 471	Extracto acetonitrílico de fréjol negro (T6)				57,62
INV 472	Extracto metanólico de fréjol panamito (T7)				17,62
INV 473	Extracto etanólico de fréjol panamito (T8)				20,20

UNIVERSIDAD ESTADAL DE BOLÍVAR VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN Laguacoto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.	Código	IR-PFTAA
		Versión	1
		Año	2023
		Página	Página 2 de 2
INFORME DE RESULTADOS			

INV 474	Extracto acetonitrílico de fréjol panamito (T9)				18,21
INV 475	Extracto metanólico de fréjol bombolín (T10)				43,76
INV476	Extracto etanólico de fréjol bombolín (T11)				48,17
INV 477	Extracto acetonitrílico de fréjol bombolín (T12)				57,52

Los resultados de los análisis corresponden a 3 determinaciones por muestra.



 Ing. Favian Bayas PhD.
 Director DIVIUEB

 UNIVERSIDAD ESTADAL DE BOLÍVAR	VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN <small>Leguacoto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.</small>		Código	IR-PFTAA
		INFORME DE RESULTADOS		Versión	1
				Año	2023
				Página	Página 1 de 2

INFORME DE ENSAYOS N° 269

DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA					
Solicitante	Melanie Molina, Tarciso Ramírez				
Muestra	Extractos con solventes orgánicos de cuatro variedades de fréjol				
Código asignado UEB	INV 466, INV 467, INV 468, INV 469, INV 470, INV 471, INV 472, INV 473, INV 474, INV 475, INV 476, INV 477				
Estado de la muestra	Líquido				
Envase de recepción	Tubo de centrifuga con 25 ml de contenido de extracto				
Análisis requerido(s)	Actividad antioxidante				
Fecha de recepción	27 de septiembre de 2023				
Fecha de análisis	11 de octubre de 2023				
Fecha de informe	26 de octubre de 2023				
Técnico (s) asignado	MFQM				
RESULTADOS OBTENIDOS					
Código de laboratorio	Muestra	Análisis	Método de análisis	Unidad	Resultado
INV 466	Extracto metanólico de fréjol marrón (T1)	Actividad antioxidante	FRAP (poder antioxidante reductor férrico)	µmol ET/g muestra	13,56
INV 467	Extracto etanólico de fréjol marrón (T2)				17,00
INV 468	Extracto acetonitrílico de fréjol marrón (T3)				26,89
INV 469	Extracto metanólico de fréjol negro (T4)				23,32
INV 470	Extracto etanólico de fréjol negro (T5)				19,62
INV 471	Extracto acetonitrílico de fréjol negro (T6)				38,48
INV 472	Extracto metanólico de fréjol panamito (T7)				5,86
INV 473	Extracto etanólico de fréjol panamito (T8)				5,40

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN <small>Leguacoto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.</small>		Código	IR-PFTAA
	INFORME DE RESULTADOS		Versión	1
			Año	2023
			Página	Página 2 de 2

INV 474	Extracto acetonitrílico de fréjol panamito (T9)				3,47
INV 475	Extracto metanólico de fréjol bombolín (T10)				10,42
INV476	Extracto etanólico de fréjol bombolín (T11)				14,29
INV 477	Extracto acetonitrílico de fréjol bombolín (T12)				21,92

Los resultados de los análisis corresponden a 3 determinaciones por muestra.


Ing. Favian Bayas Ph.D.
Director DIVIUEB.



 UNIVERSIDAD ESTADAL DE BOLIVAR VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN		Código	IR-PFTAA
	Laguacoto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.		Versión	1
	INFORME DE RESULTADOS		Año	2023
			Página	Página 1 de 2

INFORME DE ENSAYOS N° 268

DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA					
Solicitante	Melanie Molina, Tarciso Ramírez				
Muestra	Extractos con solventes orgánicos de cuatro variedades de fréjol				
Código asignado UEB	INV 466, INV 467, INV 468, INV 469, INV 470, INV 471, INV 472, INV 473, INV 474, INV 475, INV 476, INV 477				
Estado de la muestra	Líquido				
Envase de recepción	Tubo de centrifuga con 25 ml de contenido de extracto				
Análisis requerido(s)	Actividad antioxidante				
Fecha de recepción	27 de septiembre de 2023				
Fecha de análisis	10 de octubre de 2023				
Fecha de informe	26 de octubre de 2023				
Técnico (s) asignado	MFQM				
RESULTADOS OBTENIDOS					
Código de laboratorio	Muestra	Análisis	Método de análisis	Unidad	Resultado
INV 466	Extracto metanólico de fréjol marrón (T1)	Actividad antioxidante	DPPH ((2,2-Difenil-1-Picrihidrazilo)	µmol ET/g muestra	14,12
INV 467	Extracto etanólico de fréjol marrón (T2)				21,09
INV 468	Extracto acetoniútrico de fréjol marrón (T3)				37,38
INV 469	Extracto metanólico de fréjol negro (T4)				15,69
INV 470	Extracto etanólico de fréjol negro (T5)				15,96
INV 471	Extracto acetoniútrico de fréjol negro (T6)				28,48
INV 472	Extracto metanólico de fréjol panamito (T7)				8,61
INV 473	Extracto etanólico de fréjol panamito (T8)				9,33

UNIVERSIDAD ESTADAL DE BOLÍVAR VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN		Código	IR-PFTAA
	<small>Laguacoto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.</small>		Versión	1
	INFORME DE RESULTADOS		Año	2023
			Página	Página 2 de 2

INV 474	Extracto acetonitrílico de fréjol panamito (T9)				4,92
INV 475	Extracto metanólico de fréjol bombolín (T10)				13,33
INV476	Extracto etanólico de fréjol bombolín (T11)				17,40
INV 477	Extracto acetonitrílico de fréjol bombolín (T12)				27,68

Los resultados de los análisis corresponden a 3 determinaciones por muestra.


Ing. Favián Bayas PhD.
Director DIVIUEB



Anexo 5

Análisis de proteínas del suplemento

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN Laguacoto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador	Código	FPG12-01
	INFORME DE RESULTADOS	Versión	1
		Año	2024
		Página	Página 1 de 1

INFORME N° 081-2024

DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA						
Solicitante	Tarciso Jeancarlo Ramírez Vega y Melanie Dayanna Molina Penagos					
Muestra	Concentrado de proteína de frejol marrón					
Código asignado UEB	INV-001					
Estado de la muestra	Liofilizado					
Envase de recepción	Frascos de plástico					
Análisis requerido(s)	Porcentaje de Proteína total					
Fecha de recepción	04-01-2024					
Fecha de análisis	08-01-2024					
Fecha de informe	14-02-2024					
Técnico (s) asignado	MIPV					
RESULTADOS OBTENIDOS						
Código de laboratorio	Muestra	Parámetros	Unidad	Método	Resultado	Promedio
INV- 001	Concentrado de proteína de frejol marrón, obtenido por su punto isoeléctrico. R1	Porcentaje de proteína	%	Dumas	71,06	70,81
	Concentrado de proteína de frejol marrón, obtenido por su punto isoeléctrico. R2				70,81	
	Concentrado de proteína de frejol marrón, obtenido por su punto isoeléctrico. R3				70,56	

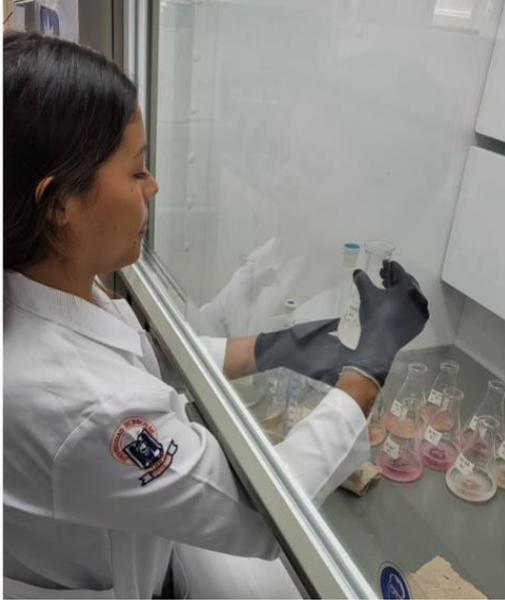
Los resultados son con tres réplicas.


Dr. Favian Bayas Morejón
 Director DIVIUEB

Anexo 6

Análisis bromatológicos de la materia prima

Fibra



Cenizas



Grasa



Humedad



Proteína



Anexo 7

Caracterización de las materias primas.

Materia prima

Fréjol Marrón



Fréjol Negro



Fréjol Panamito



Fréjol UEB-Bombolín



Anexo 8

Obtención de extractos de las variedades de fréjol (*Phaseolus vulgaris* L.)

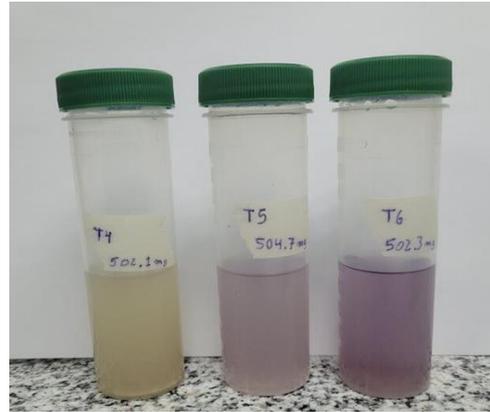
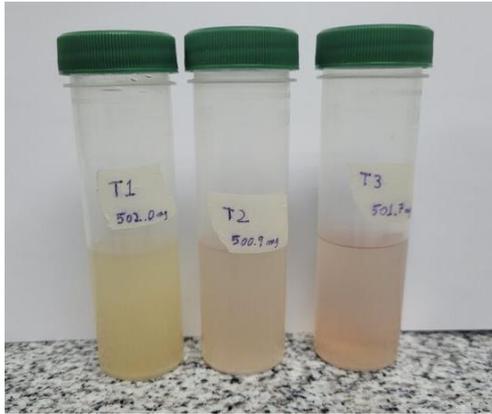
Extractos de las diferentes variedades de fréjol

Variedad fréjol Marrón

T1(Metanol) T2(Etanol) T3(Acido
nitrilo)

Variedad fréjol negro

T4(Metanol) T5(Etanol) T6(Acido
nitrilo)

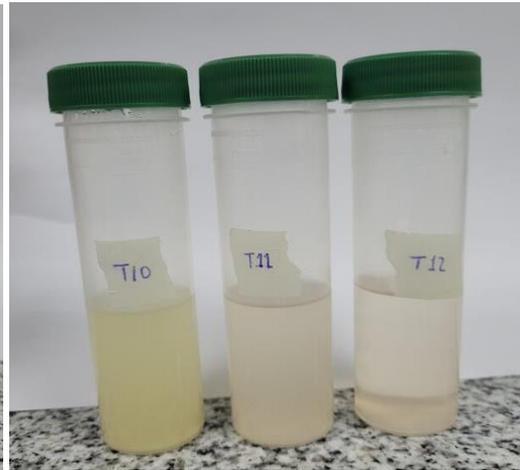
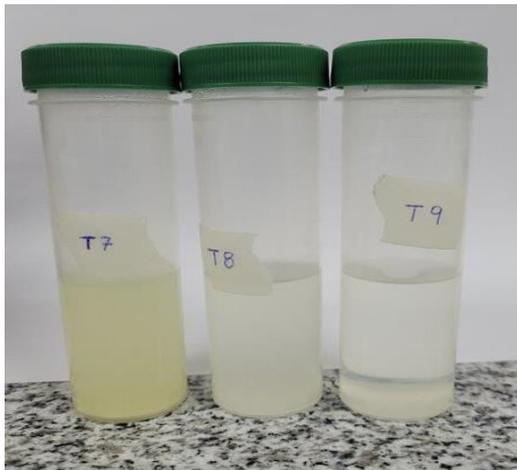


Variedad fréjol panamito

T7(Metanol) T8(Etanol) T9(Acido
nitrilo)

Variedad fréjol UEB-Bombolín

T10(Metanol) T11(Etanol) T12(Acido
nitrilo)



Anexo 9

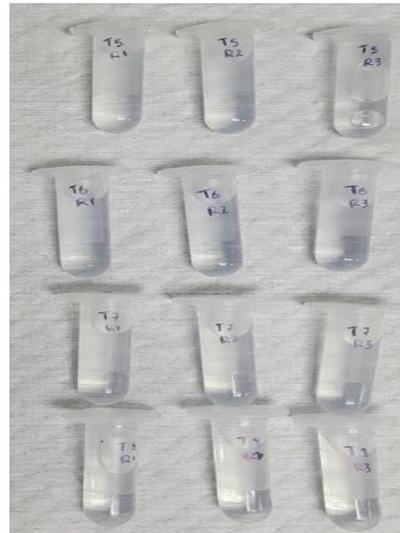
Cuantificación del contenido de polifenoles, flavonoides y antocianinas totales.

Polifenoles

Muestra del estándar de ácido gálico



Tratamientos para la cuantificación de polifenoles desde el tratamiento T1-T12

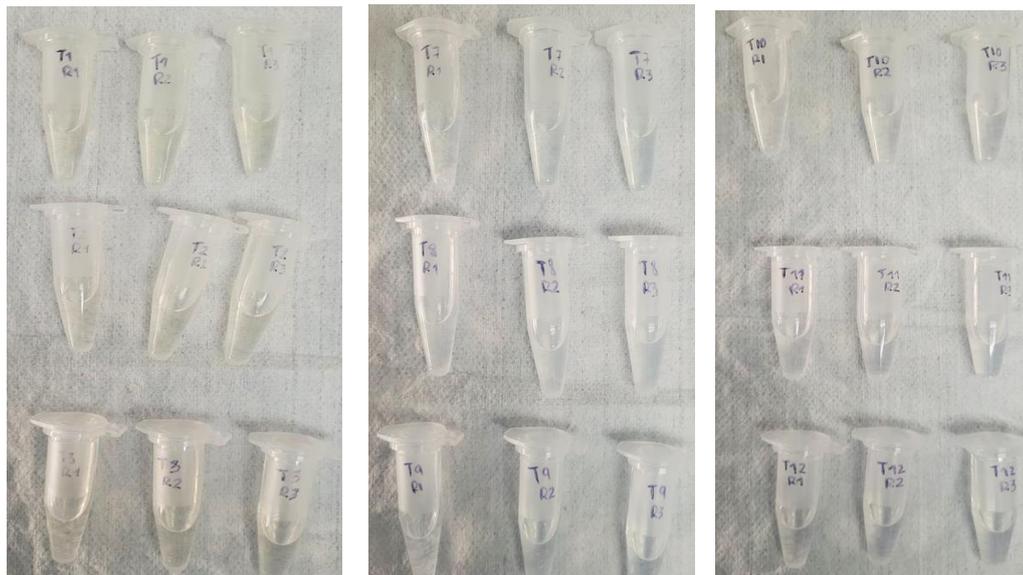


Flavonoides

Muestra del estándar de Quercetina



Tratamientos para la cuantificación de polifenoles

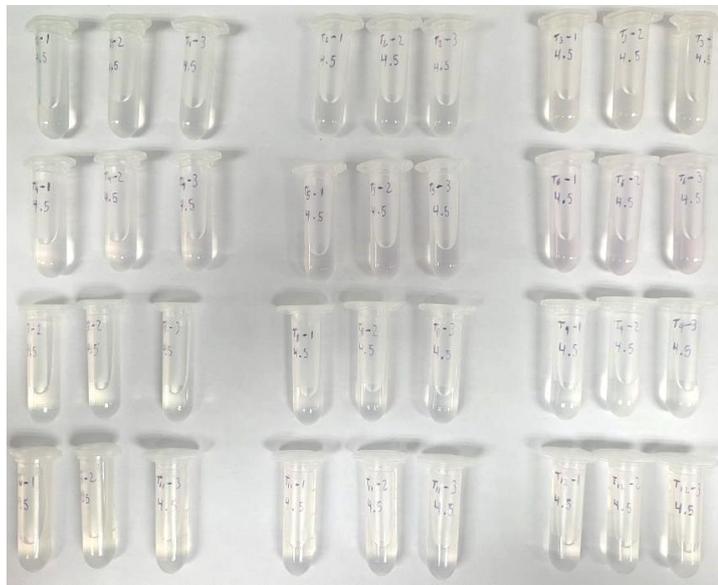


Antocianinas Totales

Tratamientos T1-T12 (pH1.0)



Tratamientos T1-T12 (pH 4.5)



Anexo 10

Determinación de la actividad antioxidante in vitro por el método ABTS, FRAP y DPPH.

ABTS

Muestra del estándar de Trolox



Tratamientos para la cuantificación de antioxidantes del tratamiento T1-T12

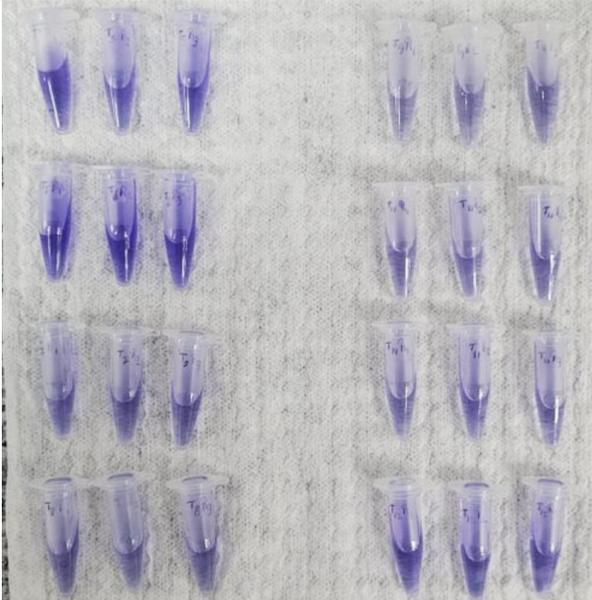


FRAP

Muestra del estándar de Trolox



Tratamientos para la cuantificación de antioxidantes del tratamiento T1-T12

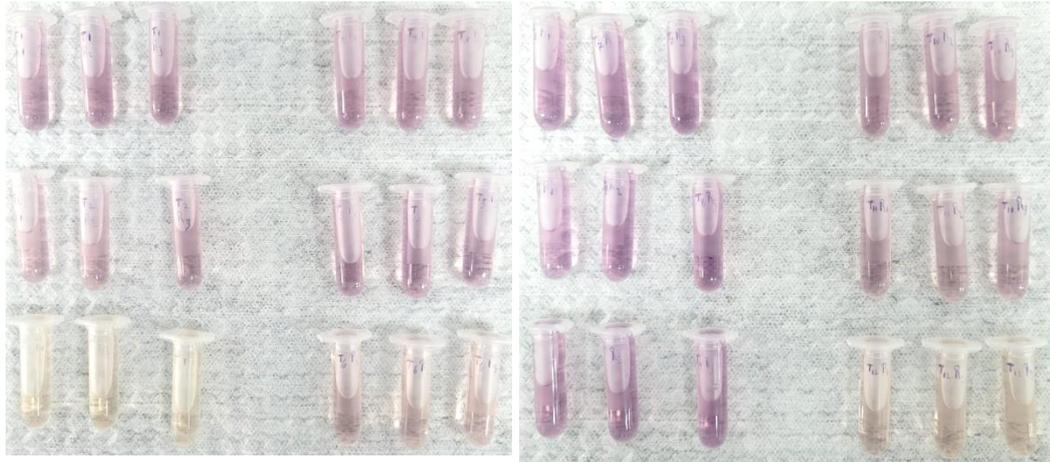


DPPH

Muestra del estándar de Trolox



Tratamientos para la cuantificación de antioxidantes del tratamiento T1-T12



Anexo 11

Aprovechamiento del mejor tratamiento para la obtención de un suplemento proteico.

Suplemento Proteico



SUPLEMENTO PROTEICO Y ANTIOXIDANTE

Peso Neto: 10g

Composición (Cada sobre de 10g contiene):

Principio Activo: Extracto de Fréjol Marrón (*Phaseolus Vulgaris L.*) en polvo

Indicaciones: Disolver en 350ml de agua

Un sobre diario. No exceda de 3 sobres por día.

Posología: Un sobre diario. No exceda de 3 sobres por día.

Fabricado en:

En las instalaciones del laboratorio de investigación de alta complejidad de la Universidad Estatal de Bolívar, sector Lagucoto II. (Guaranda Km 1 ½ Vía San Simón)
Guaranda-Bolívar-Ecuador

Anexo 12

Glosario de términos

Alergenicidad: Capacidad de desencadenar una respuesta inmunitaria anormal que provoca una reacción alérgica en una persona.

Renta per cápita: Indicador macroeconómico de productividad y desarrollo económico, usado para entregar una visión respecto al rendimiento de las condiciones económicas y sociales de un país, esto en consideración del crecimiento real y la fuerza laboral.

Leghemoglobina: Es una hemoproteína presente en los nódulos radiculares fijadores de nitrógeno de las leguminosas. Las enzimas de este proceso de fijación son muy sensibles a la presencia de O₂, por lo que la función de éste compuesto sería captarlo para evitar que produzca daños.

Estaquiosa: Es un tetrasacárido formado por dos unidades de α -D-galactosa, una unidad de D-glucosa, se encuentra de manera natural en muchos vegetales y plantas.

Cromógenos: Es un compuesto químico incoloro que solo se convierte en un compuesto coloreado a través de una reacción química.

Antineoplásica: Tipo de medicamento contra el cáncer que impide la multiplicación de las células al interferir con el ADN, el material genético de las células.

Isoleucina: Es uno de los aminoácidos naturales más comunes, además de ser uno de los aminoácidos esenciales para el ser humano.

Fenilalanina: Es un aminoácido. Se encuentra en las proteínas como L-fenilalanina, siendo uno de los 9 aminoácidos esenciales para el ser humano, está presente también en muchos psicoactivos.

Metionina: Es un aminoácido esencial, uno de los constructores de bloques de proteínas y péptidos que su cuerpo no puede producir de otros químicos. El cuerpo utiliza la metionina para producir creatina y utiliza el sulfuro de la metionina para un metabolismo y un crecimiento normal.

Antimicrobiano: Es un agente que mata microorganismos o detiene su crecimiento. Los medicamentos antimicrobianos se pueden agrupar de acuerdo con los microorganismos contra los que actúan principalmente.