

POLIFENOLES TOTALES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE (DPPH Y ABTS) EN CUATRO VARIEDADES DE FREJOL (*Phaseolus vulgaris* L.) CRUDO SECO, REMOJADO Y COCIDORosario Salas¹, Elizabeth Ordoñez², Darlym Reátegui³

Recepción: 25 de noviembre de 2015

Aceptado: 03 de junio de 2016

Resumen

El trabajo se desarrolló en los laboratorios del Centro de Investigación para el Desarrollo Biotecnológico de la Amazonia, Universidad Nacional Agraria de la Selva. Los objetivos fueron evaluar el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante (DPPH y ABTS) en cáscara, cotiledón y grano entero de cuatro variedades de frejol: "Sumaq puka", "Huasca", "Huallaguino" y "Panamito", en los estados crudo, remojado y cocido. El extracto se obtuvo a partir de 4 g de muestra molida, enrazadas a 10 mL con metanol y macerado por 24 h, finalmente filtrada y centrifugada. Los resultados del contenido de polifenoles y pruebas de DPPH y ABTS fueron evaluadas mediante diseño completo al azar (DCA), prueba de Tukey ($p < 0,05$). Según los resultados el mayor contenido de polifenoles totales en estado crudo correspondió a cáscara y cotiledón de frejol "Huallaguino", en grano entero "Sumaq puka"; en el frejol remojado fue cáscara "Huallaguino" y cotiledón de "Huallaguino", "Huasca" y "Sumak puka"; en grano entero "Sumaq puka"; En el frejol cocido fue cáscara de "Huallaguino"; cotiledón de "Huallaguino" y "Sumaq puka" y en grano entero "Huallaguino", "Suamaq puka" y "Huasca". La mayor capacidad antioxidante frente al radical DPPH y ABTS en todos los tratamientos lo presentó el frejol "Huallaguino".

Palabras claves: Polifenoles, capacidad antioxidante (DPPH y ABTS), variedades de frejol, crudo, remojado y cocido.

Abstract

This research was developed in the laboratories of CIDBAM-UNAS. The objectives were to evaluate the total polyphenol content and antioxidant capacity (DPPH and ABTS) in shell, cotyledon, whole grain of four varieties of beans: Sumaq puka, Huasca, Panamito and Huallaguino, in the states: raw, soaked and cooked. The extract was obtained from 4 grams of sample leveled up to 10 mL with methanol and macerated for 24 h, finally they filtered and centrifuged. The results the polyphenol content and DPPH and ABTS tests were evaluated using a complete randomized design (DCA) and Tukey test ($p < 0,05$). The results showed that the shell and cotyledon of "Huallaguino", as well as in grain whole "Sumaq puka"; had a higher content of polyphenols, in grain soaked it obtained the greatest in the "Huallaguino" skin; cotyledon "Huallaguino", "Huasca" and "Sumaq puka" and whole "Sumaq puka" grain. In beans cooked in the "Huallaguino" skin was obtained the biggest, cotyledon "Huallaguino" and "Sumaq puka"; and whole "Huallaguino" grain, "Sumaq puka" and "Huasca". The highest antioxidant capacity against DPPH radical and ABTS in all treatments present the Huallaguino beans.

Key words: polyphenols, antioxidant capacity (DPPH and ABTS), bean varieties, raw, soaked and cooked.

¹ Tesista de la Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias - UNAS, Tingo María.

² Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias- UNAS, Tingo María - Perú. E-mail: suordoneze@hotmail.com

³ Centro de Investigación para el desarrollo Biotecnológico de la Amazonia (CIDBAM - UNAS), Tingo María, Perú. E-mail: darlymrd@gmail.com.

Introducción

El frejol es uno de los alimentos más antiguos, siendo utilizado desde los primeros registros de la humanidad (1). El género *Phaseolus vulgaris* L. comprende unas sesenta especies, pertenecientes a los países cálidos, sus tallos son delgados y de mayor o menor altura según la variedad (2). El frejol "Panamito" es un grano de color blanco se produce en los valles interandinos del Perú (3). "Huasca" es un grano de color amarillo anaranjado con un peso promedio de 25- 40 g por 100 semillas (4). "Sumaq puka" grano de color rojo tipo dark red kidney (3). "Huallaguino" frejol de color amarillo rojizo con un peso promedio de 25- 40 g por 100 semillas. El frejol entre las leguminosas de granos alimenticios es la especie más importante para el consumo humano, denominada desde la antigüedad "carne de los pobres" por su riqueza proteica y su completa composición (4). El remojo es una fase preliminar a los métodos de preparación de las leguminosas, se practica para ayudar a quitar las pieles, para humedecer y ablandar la semilla y así abreviar el tiempo de cocción y reducir el contenido de toxinas (5). La cocción inactiva factores termolábiles y elimina compuestos volátiles responsables de sabores desagradables, como también reduce el contenido de polifenoles (30-40%) (6). Los polifenoles constituyen una de las principales clases de metabolitos secundarios, son de difícil clasificación, pero se pueden subdividir en cuatro grandes grupos, primero los ácidos fenólicos, segundo los ligninas, tercero los taninos y por último los flavonoides, que a su vez se dividen en varios subgrupos como flavonas, isoflavonas, antocianinas, entre otros (7). El frejol es un alimento nutracéutico o funcional, no solo por sus características nutricionales sino también por el papel que algunos de sus componentes desempeñan en la promoción de la salud (8). Los compuestos fenólicos, además de poseer actividad antioxidante, se aplican como colorantes naturales y poseen propiedades antibacterianas y antifúngicas (9). Los compuestos antioxidantes tienen la capacidad de inhibir la oxidación de moléculas y por tanto actúan como protector de moléculas biológicas contra especies reactivas de oxígeno o radicales libres (10). En base a este marco se planteó los siguientes objetivos: Evaluar el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante (DPPH y ABTS) en cáscara, cotiledón, grano entero de cuatro variedades de frejol "Panamito" "Sumaq puka", "Huasca" y "Huallaguino" en estado crudo, remojado y cocido.

Materiales y métodos

Lugar de ejecución

El trabajo se llevó a cabo en el Centro de Investigación para el Desarrollo Biotecnológico de

la Amazonia (CIDBAM), de la Universidad Nacional Agraria de la Selva (UNAS), ubicada en el distrito de Rupa Rupa, provincia de Leoncio Prado, Región Huánuco; cuyas coordenadas son: Este: 390368, Norte: 8971142 y a una altitud de 660 m.s.n.m. con clima tropical húmedo y con una HR de 84% y temperatura media de 25°C.

Materia prima

Frejol Huallaguino y Huasca se recolectó del fundo "Carlos" ubicado en el distrito de Hermilio Valdizan, provincia de Leoncio Prado, región Huánuco, una altitud 1451 msnm, clima húmedo, HR de 73% y temperatura media anual de 23°C. Frejol Sumaq puka y Panamito fue obtenido del fundo "Salas" ubicado en el distrito Santa Teresa sector Chaquiorcco provincia La Convención, Cusco, una altitud 1851 msnm, con clima templado húmedo, HR de 80% y temperatura de 10°C a 30°C.

Metodología experimental

Para la preparación de las muestras se pesó 500 g de frejol crudo de cada variedad, se separó 400 g y se retiró la cáscara de manera manual y 100 g se dejó como frejol entero. Para las muestras de frejol remojado se pesó 500 g, se adicionó agua a una relación 3:1 (agua: grano), se remojó por 12 h a temperatura ambiente; se separó la cáscara, cotiledón y una parte se mantuvo como frejol entero; se secó a 60°C/24h. Para el frejol cocido, las muestras remojadas se llevaron a cocción (91°C/ 40 min) con agua en una relación 10:1 (agua: grano) (11), después del cocinado se separó la cáscara, cotiledón y una parte se mantuvo entero. Las muestras cruda, remojada y cocida fueron molidas, envasados y almacenados a temperatura ambiente. Para la preparación de los extractos de cada muestra se pesó 4 g en un frasco ámbar, se enrasó con 10 mL metanol (99%), se maceró por 24 h, el líquido filtrado se centrifugó a 10000 rpm /10 min a 4°C.

Para la cuantificación de polifenoles totales se siguió el método de Folin – Ciocalteu (12) se preparó una curva estándar con una solución stock de 10 mL de ácido gálico (2 mg/mL) a partir de ello se prepararon concentraciones entre 1,00 a 0,0625 mg/mL, se agregó a cada tubo 1580 mL de agua desionizada y 20 µL de la solución stock y para el blanco 20 µL de agua desionizada; luego se agregó 100 µL Folin-Ciocalteu a cada tubo, se neutralizó la reacción agregando 300 µL de Na₂CO₃ al 20% y finalmente se incubó por 2 h a temperatura ambiente, se realizó la lectura en espectrofotómetro Genesys 6 UV/VIS a 700 nm. Con los resultados se determinó el coeficiente de correlación. Para las muestras se partió del extracto metanólico 400 mg/mL, se preparó diluciones de trabajo y la reacción se realizó de manera similar a la curva patrón solo se reemplazó los 20 µL de la solución stock por 20 µL de la dilución de trabajo. Los

resultados fueron expresados en equivalente de ácido gálico (mg EAG/100 g muestra).

Para la evaluación de la **capacidad antioxidante se utilizó el método del radical 2,2-difenilpicrilhidrazil (DPPH)** (13), se preparó 10 mL de solución stock de DPPH a 1mM en etanol al 70%; a partir de ésta solución se preparó 50 mL de DPPH a 100 μ M en etanol al 70%. Del extracto metanólico 400 mg/mL se preparó las diluciones de trabajo. En una cubeta de poliestireno se adicionó 500 μ L de la solución de trabajo y 500 μ L de solución DPPH a 100 μ M, se realizó la lectura en un espectrofotómetro de UV/VIS a 517 nm con intervalos de 30s por un tiempo de 10 min. La inhibición de radicales DPPH fue expresado como IC₅₀ (concentración de muestra necesaria para inhibir el 50% de radicales DPPH), calculada en la ecuación obtenida por regresión lineal entre concentración de muestra y porcentaje de inhibición de DPPH, en la cual reemplazamos 50 como valor de porcentaje de inhibición de DPPH y calculamos el valor de concentración requerida.

Capacidad de inhibir el radical libre 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolino -6- ácido sulfónico) (ABTS^{o+}) (14) el radical ABTS^{o+} se forma tras la reacción de ABTS (7 mM) con persulfato potásico a 140 mM incubados a temperatura ambiente y en oscuridad durante 16 h, una vez formado el radical se diluyó con etanol hasta obtener un valor de absorbancia entre 0,7 a 1,2. Para la inhibición del radical ABTS^{o+} se partió del extracto metanólico 400 mg/mL, se preparó concentraciones para todos los tratamientos en un rango de 2 a 400 mg/mL y las diluciones de trabajo. En una cubeta de poliestireno se adicionó 100 μ L de la solución de trabajo y 900 μ L del radical ABTS^{o+}. La disminución de la absorbancia se registró a 734 nm por espacio de 10 minutos. La capacidad de inhibición del radical fue expresada como IC₅₀ (concentración de muestra necesaria para inhibir el 50% de radicales ABTS^{o+}), se calculó de manera similar que para el radical DPPH. Los resultados de polifenoles totales y la capacidad antioxidante frente al radical DPPH y ABTS^{o+} fueron analizados con el modelo

estadístico diseño completo al azar (DCA) y donde tuvo diferencia estadística se aplicó la prueba de Tukey p<0,05 (15 MENDIBURU, para lo cual se utilizó el programa estadístico SAS versión 9,2.

Resultados y discusión

Contenido de polifenoles totales en cáscara, cotiledón y grano entero de cuatro variedades de frejol crudo, remojado y cocido.

En la **cáscara frejol crudo** según los resultados (Cuadro 1) el mayor contenido de polifenoles lo presentó la variedad "Huallaguino" (T₃) 3,65±0,02 g EAG/100 g ms, este frejol se adapta bien a climas tropicales y es el más consumido por el poblador de la región, con una coloración amarillo rojizo; el frejol es una buena fuente de polifenoles principalmente en aquellos que tienen la cáscara de color oscuro (16). Para el **Cotiledón en frejol crudo** el contenido de polifenoles totales se encontró entre 0,051 a 0,033 gEAG/100g ms, que comparando con los reportes se encuentra dentro del rango; en cotiledón de 25 variedades de frejoles brasileños y 3 peruanos el rango fue de 0,042 a 0,090 g EC/100 g (17) y en cotiledones de frejol negro 0,094 g EAG / 100g (18). El contenido de polifenoles en el cotiledón fue 0,0241g EAG /100g (19). En el mismo Cuadro para el **grano entero** en frejol **crudo** el mayor contenido de polifenoles lo presentó el frejol "Sumaq puka" (T₂) fue estadísticamente diferente a los demás, este frejol se caracteriza por tener un color rojizo oscuro; aquellos frejoles coloreados tienen niveles más altos de compuestos fenólicos que los de color claro (20). El contenido de polifenoles totales en las cuatro variedades de frejol se encontró entre 0,96 a 0,04 gEAG/100g ms, comparando con los reportes se encuentra dentro del rango; los polifenoles en 12 variedades de frejol negro fluctuó entre 0,3655 – 0,460 g EAG/ 100g (11). En variedades de frejol negro fue 0,246 a 0,293 g EAG / 100 g (21). En variedades de frejol blanco y frejol tortuga negro fue 0,057 y 0,699 g EAG/ 100g (22).

Cuadro 1. Contenido de polifenoles totales en frejol crudo, remojado y cocido (cáscara, cotiledón y grano entero) de cuatro variedades de frejol.

Variedad de frejol	Polifenoles totales (g EAG/100g ms)								
	Crudo			Remojado			Cocido		
	Cáscara	Cotiledón	Grano entero	Cáscara	Cotiledón	Grano entero	Cáscara	Cotiledón	Grano entero
Panamito (T ₀)	0,03±0,00 ^d	0,03±0,001 ^d	0,04±0,01 ^d	0,03±0,01 ^d	0,01±0,01 ^b	0,03±0,01 ^d	0,02±0,01 ^d	0,01±0,001 ^c	0,02±0,00 ^c
Huasca (T ₁)	2,11±0,09 ^c	0,04±0,001 ^c	0,58±0,05 ^c	0,99±0,02 ^c	0,03±0,01 ^a	0,09±0,01 ^c	0,16±0,01 ^c	0,02±0,003 ^b	0,07±0,01 ^a
Sumaq puka (T ₂)	2,44±0,02 ^b	0,04±0,001 ^b	0,96±0,01 ^a	1,18±0,02 ^b	0,03±0,01 ^a	0,18±0,01 ^a	0,32±0,01 ^b	0,03±0,001 ^{ba}	0,09±0,01 ^a
Huallaguino (T ₃)	3,65±0,02 ^a	0,05±0,001 ^a	0,84±0,01 ^b	2,52±0,02 ^a	0,03±0,01 ^a	0,15±0,01 ^b	0,52±0,12 ^a	0,03±0,002 ^a	0,08±0,01 ^a

Los valores representan (promedio ± SEM) datos provienen del experimento (n=3) valores de la misma columna con superíndices diferentes son significativos (P≤0,05). Fuente: Datos obtenidos experimentalmente en CIDBAM (Universidad Nacional Agraria de la Selva).

En el mismo Cuadro 1 se puede apreciar que el mayor contenido de polifenoles totales en la **cáscara de frejol remojado** presentó el "Huallaguino", si comparamos este valor con referencia a la cáscara del frejol crudo podemos apreciar que en el remojo se ha perdido el 25,2% de polifenoles, esto se puede aducir que en el remojo se pueden reducir aquellos antinutrientes solubles con el agua (23). El rango de polifenoles totales en cáscara de frejol remojado se encontró entre 2,52 a 0,03 g EAG/100g ms, comparando los resultados podemos indicar que nos encontramos en el rango, en cáscara remojada de frejol negro 1,015 g EAG/100g ms (24). En el **cotiledón del frejol remojado** no presentó diferencia estadística entre "Huallaguino" (T₃), "Sumaq puka" (T₂) y "Huasca" (T₁), en todos los casos se encontró una pérdida en un rango de 18 a 25% con respecto al cotiledón crudo, siendo mucho menor en las legumbres remojadas de 12 a 22 h pierden del 30% a 40% de polifenoles totales (25). Los polifenoles totales fluctuaron entre 0,01 a 0,03 gEAG/100g ms, en el agua de remojo hay sustancias nutritivas en solución que se pierden al desecharla (26). **En grano entero de frejol remojado** el mayor contenido correspondió "Sumaq puka" (T₂), comparando este valor con respecto al grano crudo perdió 80% siendo la cantidad superior a lo reportado en cuatro variedades de frejol negro remojado con una pérdida del 40 a 58% (24). El menor contenido de polifenoles totales en grano entero se encontró en frejol "Panamito" (T₀), por efecto del remojo perdió 16% del total de polifenoles. El remojo provoca la pérdida de polifenoles en lentejas alrededor de 9- 38% (21).

En el mismo Cuadro se puede apreciar los resultados en cáscara, cotiledón y grano entero cocido; en la **cáscara de frejol cocido** el "Huallaguino" (T₃) tuvo la mayor cantidad de polifenoles y el menor lo presentó el frejol "Panamito" (T₀), en todos los tratamientos el contenido de polifenoles disminuyó atribuido a que los polifenoles totales son eliminados con el tratamiento con calor (27). Por otro lado, la pérdida de polifenoles totales con respecto a la cáscara cruda fue 58 al 92%; los fenólicos disminuyeron en un 46% después de la cocción (28). Los polifenoles totales en cáscara varió entre 0,52 a 0,02 gEAG/100g ms, comparando se encuentra dentro del rango reportado en cáscara de ocho variedades de frejoles de colores en un rango de 0,116 a 0,553 EAG/100g ms (29). Para el **cotiledón de frejol cocido** el "Huallaguino" (T₃) y "Sumaq puka" (T₂) fueron estadísticamente iguales, el menor contenido se encontró en el frejol "Panamito", el contenido de polifenoles totales disminuyó con referencia al crudo de 34 al 63 %; los compuestos fenólicos son termolábiles (30). Los polifenoles totales en cotiledón fluctuó entre 0,03 a 0,01

gEAG/100g ms, comparando a otros reportes se encuentran en el rango, en soya negra fue de 0,013-0,024g EAG/100g (31). Para el **grano entero de frejol cocido** la mayor cantidad correspondió al "Huallaguino" (T₃), "Sumaq puka" (T₂) y "Huasca" (T₁) y la menor en el "Panamito"; por otro lado podemos indicar que el contenido de polifenoles totales disminuyó con respecto al grano crudo de 53 a 90%; la cocción causa significativas reducciones en los polifenoles de las legumbres del 70 al 110% (25). El contenido de polifenoles totales en grano está entre 0,090 a 0,020 gEAG/100g ms, los valores encontrados están dentro del rango en frejol rojo 0,0519 g EAG/ 100g (32).

Capacidad antioxidante en cáscara, cotiledón y grano entero de cuatro variedades de frejol crudo, remojado cocido.

Coefficiente de inhibición (IC₅₀) radical 2,2-diphenyl-1-picrilhydrazil (DPPH).

Según los resultados del Cuadro 2 para la **cáscara de frejol** crudo la mayor eficiencia frente al radical lo presentó la variedad "Huallaguino" (T₃), la coloración de la cáscara de este frejol es amarillo rojizo, la capacidad antioxidante se puede relacionar a la coloración de la testa de los granos (33). El coeficiente de inhibición frente al radical DPPH está entre 0,01 - 1,38 mg/mL, comparando a los reportes se encuentra dentro del rango, en frejol común crudo IC₅₀ 0,06709 mg/mL (34). En tres genotipos de frejol caupi el IC₅₀ 0,00783 a 0,0695 mg/ mL (35). Para el **Cotiledón crudo** la mayor eficiencia lo presentó el frejol "Huallaguino" (T₃) IC₅₀ 18,33±0,04 mg/mL, seguido por "Sumaq puka" (T₂) IC₅₀ 24,65±0,05 mg/mL y "Huasca" (T₁) IC₅₀ 20,68±0,05 mg/mL, la menor fue "Panamito" (T₀) IC₅₀ 31,22±0,07 mg/mL, analizando los resultados la concentración de los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante resultaron superiores en la testa, en comparación con los cotiledones de los granos (18). El rango IC₅₀ para cotiledón de frejol crudo pardina y castellana fue 21 y 29 mg/mL y en dos variedades de guisantes ZP-849 y Fidelia IC₅₀ 8 y 28 mg/mL (36). En el **grano entero crudo** la mayor eficiencia lo presento el frejol "Huallaguino" (T₃), seguido por "Huasca (T₁)" y "Sumaq puka (T₂)"; las cáscaras coloreadas mejoran la capacidad antioxidante (37). El frejol que tiene mayor compuesto fenólico proporciona mayor capacidad antioxidante (38). Las especies de frejol oscuros tienen una buena actividad antioxidante en comparación con las especies de frejoles blancos (39).

En el Cuadro 2 se presenta los resultados del IC₅₀ de la cáscara, cotiledón y grano entero de frejol remojado la mayor eficiencia frente al radical DPPH en **cáscara** lo presento el "Huallaguino" (T₃) y el menor "Panamito (T₀)". En comparación frente al grano sin remojar podemos indicar que todos los

tratamientos perdieron la capacidad de secuestro del radical DPPH del 95 al 98%, el remojo provoca la disminución en la actividad antioxidante (40). Según los resultados presentados se puede indicar que se encuentra dentro del rango el coeficiente de inhibición del radical DPPH en cáscara de frejol chaucha y frejol de palo fluctuó IC_{50} 0, 032 a 6,28 mg/mL (19).

En el **cotiledón** remojado el "Huallaguino" (T_3) tuvo la mayor eficiencia y el menor fue "Panamito" (T_0),

Cuadro 2. Coeficiente de Inhibición IC_{50} (DPPH) en cáscara, cotiledón y grano entero de cuatro variedades de frejol crudo, remojado y cocido.

Variedad de frejol	Coeficiente de inhibición del radical DPPH (IC_{50}) mg/mL								
	Crudo			Remojado			Cocido		
	Cáscara	Cotiledón	Grano entero	Cáscara	Cotiledón	Grano entero	Cáscara	Cotiledón	Grano entero
Panamito (T_0)	1,38±0,01 ^a	31,22±0,07 ^a	21,66±0,03 ^a	33,32±0,03 ^a	65,52±0,23 ^a	46,27±0,06 ^a	60,56±0,21 ^a	95,27±0,02 ^a	78,43±0,20 ^a
Huasca (T_1)	0,09±0,01 ^b	20,68±0,05 ^c	17,73±0,06 ^b	5,13±0,05 ^b	62,45±0,13 ^b	37,29±0,14 ^b	20,45±0,16 ^b	71,39±0,06 ^b	57,43±0,15 ^b
Sumaq puka (T_2)	0,05±0,01 ^c	24,65±0,05 ^b	8,08±0,03 ^c	2,64±0,14 ^c	58,38±0,06 ^c	25,34±0,04 ^c	17,24±0,08 ^c	66,51±0,21 ^c	41,53±0,13 ^c
Huallaguino (T_3)	0,01±0,01 ^d	18,33±0,04 ^d	7,42±0,03 ^d	0,55±0,01 ^d	44,54±0,18 ^d	20,27±0,04 ^d	9,70±0,13 ^d	61,40±0,10 ^d	32,37±0,05 ^d

Los valores representan (promedio ± SEM) datos provienen del experimento (n=3) valores de la misma columna con superíndices diferentes son significativos ($P \leq 0,05$). Fuente: Datos obtenidos experimentalmente en CIBAM (Universidad Nacional Agraria de la Selva).

En el **grano entero** la mayor eficiencia se encontró en el frejol "Huallaguino" y el menor fue "Panamito", además podemos indicar que el remojo pierde la capacidad de inhibir el radical DPPH con respecto al frejol entero crudo del 52 al 68%, el remojo afecta las propiedades antioxidantes disminuyendo en el contenido polifenólico a diferencia de un frejol sin tratamiento (22). El IC_{50} en cinco genotipos de grano entero de frejol rojo remojados fue 8,422 a 0,029 mg/mL (11).

Según los resultados del Cuadro 2 la mayor eficiencia correspondió a **cáscara de frejol cocida** "Huallaguino" (T_2), la capacidad antioxidante está relacionado con la intensidad del color del tegumento y el contenido de polifenoles totales (1). Por otro lado, se puede apreciar que la capacidad antioxidante disminuyó el 99% con respecto a la cáscara cruda, la cocción de los granos promueve la reducción de polifenoles totales y actividad antioxidante (38). En el **cotiledón cocido** el mayor coeficiente de inhibición se encontró en "Huallaguino" (T_2) IC_{50} 61,40±0,10 mg/mL y el menor en "Panamito" (T_0) IC_{50} 95,27±0,02 mg/mL; la pérdida con respecto al cotiledón crudo fue de 62 al 71% según estos datos podemos inferir que el proceso de cocción provoca una gran disminución de la capacidad antioxidante, La cocción causa una reducción en la capacidad antioxidante (41). Para **grano entero cocido** lo presentó el frejol "Huallaguino" (T_2) y el menor "Panamito" (T_0), los cambios en la capacidad antioxidante de frejol procesado se pueden atribuir a la liberación de antioxidantes solubles en la composición del agua

por otro lado, realizando la comparación frente al cotiledón crudo el remojo provocó la pérdida de la capacidad para inhibir al radical DPPH $T_1= 66\%$, $T_2= 57\%$, $T_3= 58\%$ y $T_0= 52\%$, la actividad antioxidante de los cotiledones disminuyó por efecto del remojo (18). Según los resultados podemos indicar que los cotiledones de los diferentes frejoles fueron menos eficientes frente al radical, el IC_{50} del radical DPPH en cotiledón de frejol chaucha y frejol de palo fluctuó IC_{50} 20,64-21,63mg/mL (19).

de cocción y la formación o ruptura de la estructura de los antioxidantes (42). El coeficiente de inhibición varió entre IC_{50} 32,37 - 78,43 mg/mL, el resultado se encuentra dentro del rango IC_{50} (39 a 2810 mg/mL la variación depende en parte de las condiciones ambientales y las áreas geográficas provenientes (43).

Coeficiente de inhibición (IC_{50}) del radical 2,2-azino bis (3-etilbenzotiazolino -6- ácido sulfónico) (ABTS) en frejol crudo.

Según los resultados presentados en el Cuadro 3 en cáscara de frejol crudo el coeficiente de inhibición fluctuó entre IC_{50} 0,26 a 15,26 mg/mL; el "Huallaguino", "Sumaq puka" y "Huasca" tienen las cáscaras coloreadas; la capacidad antioxidante de las cáscaras de color marrón y negro muestran una alta actividad antioxidante (44). En el **Cotiledón del frejol crudo** la mayor eficiencia frente al radical se encontró en "Huallaguino" (T_2), los cotiledones son la fracción mayoritaria de almidón del grano (20) y en el cotiledón la actividad antioxidante es muy pequeña (36). En el **grano entero crudo** la mayor eficiencia se encontró en "Huallaguino" (T_3), la capacidad antioxidante fue mayor en el frejol negro y lenteja (33). Las legumbres con cáscaras oscuras presentan una alta actividad antioxidante debido a una gran cantidad de compuestos fenólicos que contienen (45).

La cáscara de frejol remojado que presentó la mayor eficiencia fue "Huallaguino" (T_3) y el menor "Panamito" (T_4) (Cuadro 3). La capacidad de inhibir al radical ABTS fue menor comparado al frejol seco,

para el Huallaguino fue 83,3% y para el Panamito 49,5 %, esta pérdida puede deberse a que el poder antioxidante sobresaliente de las variedades con testa negra, rosada y crema se puede explicar por los compuestos fenólicos de bajo peso molecular que contienen, que al ser solubles en agua actúan como antioxidantes (46). El remojo reduce la concentración de algunas sustancias no nutritivas que se solubilizan en el medio como los polifenoles (47).

En el **cotiledón** remojado se apreció que el “Huallaguino (T₃)” presentó el mayor coeficiente de

inhibición frente al radical ABTS, el remojo causó pérdidas en la capacidad antioxidante comparado al grano seco entre 60 a 36%, el remojo redujo el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante en el cotiledón de frejol (21). Durante el periodo de remojo algunos pectatos insolubles se transforman en pectinas solubles (48). En el **grano entero** remojado la mayor eficiencia se encontró en el “Huallaguino” y la menor en “Panamito”, el procesamiento como remojo, ebullición afecta las propiedades antioxidantes disminuyendo en el contenido polifenólico y la capacidad antioxidante a diferencia de un frejol sin tratamiento (22).

Cuadro 3. Coeficiente de Inhibición IC₅₀ (ABTS) en cáscara, cotiledón y grano entero de cuatro variedades de frejol crudo, remojado y cocido.

Variedad de frejol	Coeficiente de inhibición del radical ABTS (IC ₅₀) mg/mL								
	Crudo			Remojado			Cocido		
	Cáscara	Cotiledón	Grano entero	Cáscara	Cotiledón	Grano entero	Cáscara	Cotiledón	Grano entero
Panamito (T ₀)	15,26±0,066 ^a	36,57±0,09 ^a	23,46±0,09 ^a	30,51±0,17 ^a	57,52±0,18 ^a	48,60±0,17 ^a	97,29±0,15 ^a	134,59±0,21 ^a	124,43±0,13 ^a
Huasca (T ₁)	0,96±0,02 ^b	25,45±0,16 ^b	16,59±0,16 ^b	3,33±0,14 ^b	43,38±0,11 ^b	38,25±0,14 ^b	25,45±0,20 ^b	81,51±0,11 ^b	72,43±0,07 ^b
Sumaq puka (T ₂)	0,74±0,02 ^c	15,45±0,26 ^c	12,43±0,14 ^c	2,35±0,09 ^c	39,58±0,15 ^c	31,54±0,13 ^c	24,37±0,11 ^c	70,35±0,24 ^c	64,38±0,15 ^c
Huallaguino (T ₃)	0,26±0,02 ^d	14,62±0,15 ^d	10,49±0,16 ^d	1,56±0,21 ^d	36,55±0,25 ^d	19,56±0,20 ^d	22,59±0,20 ^d	65,48±0,21 ^d	59,52±0,11 ^d

Los valores representan (promedio ± SEM) datos provienen del experimento (n=3) valores de la misma columna con superíndices diferentes son significativos (P≤0,05). Fuente: Datos obtenidos experimentalmente en CIDBAM (Universidad Nacional Agraria de la Selva).

En el Cuadro 3 se aprecia que la **cáscara de frejol cocido** “Huallaguino” (T₃) tuvo la mayor eficiencia y el menor en el “Panamito (T₀), la actividad es atribuida en gran medida al color de la testa (40). En el **cotiledón cocido** la inhibición frente al radical ABTS fluctuó entre IC₅₀ 65,48±0,21 a 134,59±0,21 mg/mL, según los resultados podemos indicar que la capacidad antioxidante en los cotiledones tostados mostró una disminución con respecto a los crudos en un rango de 4,88 a 60,39% (40). En el **grano entero cocido** la mayor eficiencia se encontró en el frejol “Huallaguino” (T₃) IC₅₀ 59,52±0,11 mg/mL, podemos apreciar que el tratamiento térmico afecta la capacidad antioxidante. La reducción de la actividad antioxidante después del tratamiento térmico de frejol Pingo de Ouro 1-2 justifica posiblemente debido a ocurren transformaciones químicas, de compuestos fenólicos y formación de complejos entre polifenoles y otras sustancias (21).

Conclusiones

El mayor contenido de polifenoles totales en frejol crudo lo presentó la cáscara y cotiledón de “Huallaguino” y en grano entero “Sumaq puka”. En frejol remojado fue cáscara de “Huallaguino”; cotiledón “Huallaguino”, “Huasca” y “Sumak puka” y en grano entero el “Sumaq puka”. En frejol cocido fue cáscara de “Huallaguino”; cotiledón de “Huallaguino” y “Sumaq puka” y en grano entero “Huallaguino”, “Suamaq puka” y “Huasca”. La mayor

capacidad antioxidante frente al radical DPPH y ABTS en cáscara, cotiledón y grano entero de frejol crudo, remojado y cocido presentó el frejol “Huallaguino”.

Referencias bibliográficas

1. Esteves M. Caracterização físico-química e atividade antioxidante de novas variedades de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). Dissertação Mg. Sc., em Qualidade e Segurança Alimentar. Bragança. 2010.
2. Cubero J, Moreno M. Leguminosas de grano; características de las leguminosas. Madrid: Ed. Mundi- Prensa; 1983. 356 p.
3. Gamarra M, Puma J, Cardoso S. Estación Experimental Andenes Cusco unidad de extensión agraria. Ministerio de Agricultura, Cusco, Perú. Boletín Técnico 2010. n°16. 25p.
4. Del Águila A. Determinación del grado de susceptibilidad de 3 variedades de frejol (*Phaseolus vulgaris* L.) al ataque de crismélidos en Tingo María. [Tesis Ing. Agrónomo]. Perú, Tingo María: Universidad Nacional Agraria de la Selva; 1997. 63p.
5. Hurtado M, Marquez A. Desarrollo y evaluación de croquetas prelistas congeladas utilizando granos de fríjol (*Phaseolus vulgaris* L.). [Tesis Ing. en alimentos]. Colombia, Bogotá: Universidad de la Salle Bogotá; 2005. 187p.
6. Carmona R. Efecto del tipo de remojo en la digestibilidad del almidón en frejol cocido. [Tesis

- de maestría en Productos Bióticos]. México: Instituto Politécnico Nacional; 2005. 77p.
7. Martínez A. Flavonoides: unos amigos del corazón. Facultad de Ciencias farmacéuticas de la Universidad de Antioquia, Medellín (España). Boletín Técnico. 2000. n° 50. 18 p.
 8. Paredes L, Guevara L, Bello P. Los alimentos mágicos de las culturas indígenas mesoamericanas. Rev. Virt. Gastr., México. 2006; 6:44–41.
 9. Marcano D, Hosegawa M. Fitoquímica Orgánica. Caracas, Venezuela: Ed. Universidad; 1991. 601 p.
 10. Correa J, Ortiz D, Larrahondo J, Sánchez M, Pachón P. Actividad antioxidante en guanábana (*Annona muricata* L.). Boletín latinoamericano y del caribe de plantas medicinales y aromáticas 2012; 11(2):126-111.
 11. Cajas P. Determinación de la concentración de antioxidantes en cinco genotipos de fréjol rojo crudo y procesado. [Tesis Ing. en alimentos]. Ecuador, Quito; Universidad tecnológica equinoccial de Ecuador. 2012. 135p.
 12. Mosquera L. Influencia de la humedad y de la adición de solutos (Maltodextrina o goma arábiga) en las propiedades fisicoquímicas de borjón y fresa en polvo. [Tesis doctoral]. España, Valencia: Universidad Politécnica de Valencia; 2010. 247 p.
 13. Yamaguchi T., Takamura, H., Matoba, T., Terao, J. HPLC-method for evaluation of the free radical scavenging activity of foods by using 1,1 difenil-2- picril-hidrazil. Bionscience, biotechnology an biochemistry. 1998; 62(6):1204-1201.
 14. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic. Biol. Med. 1999; 26(9):1231–7.
 15. De Mendiburu F. Análisis Estadístico con “R” [Internet]: La Molina 2007. [citado el 20 de jun. de 2015]. Disponible desde: <http://lamolina.edu.pe/~fmendiburu/index-filer/Presentationsdocumento>.
 16. Alanis G, Reyes R, Saldívar S, García C. Efecto de polifenoles de frejol sobre lípidos séricos. IV Congreso Internacional de Ingeniería Bioquímica. Memorias, Morelia CIIB. 2006. pp.103-105.
 17. Gálvez L, Genovese M, Lajolo F. Polyphenols and antioxidant capacity of seed coat and cotyledon from Brazilian and Peruvian bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.). J. Agric. Food Chem. 2007; 55:98-90.
 18. Mujica M. Estudio de la participación de los compuestos fenólicos y de la enzima peroxidasa en el endurecimiento de *Phaseolus vulgaris* L. [Tesis doctoral en ciencia de los alimentos]. Venezuela, Sartenejas: Universidad Simón Bolívar; 2012. 173p.
 19. Quintanilla J. Evaluación de la actividad antioxidante y cuantificación de quercetina en dos especies de frejol palo (*Cajanus cajan* L.) frejol chaucha (*Phaseolus vulgaris* L.). [Tesis Ing. en industrias alimentarias]. Perú, Tingo María: Universidad Nacional Agraria de la Selva; 2011. 67p.
 20. Rocha N, Gonzalez A, Ibarra R, Zambrano G. Antioxidant and antimutagenic activity of phenolic compounds in three different colour groups of common bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.). Food Chemistry. 2007; 103(2):527-521.
 21. Xu J, Chang C. Effect of soaking, boiling, and steaming on total phenolic content and antioxidant activities of cool season food legumes. Food chemistry. 2008; 110:1–13.
 22. Xu J, Chang S. A Comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents. Journal of food science. 2007; 72(2):166-159.
 23. Piñero M, Parra K, Barboza Y, Pérez M, Ortega J. Efecto combinado de la imbibición y la germinación sobre la calidad del quinchoncho (*Cajanus cajan* (L) Millsp.). Ciencia, Maracaibo, Venezuela. 2013; 21(4):200-192.
 24. Tanquina, I. Efecto de la especie y el procesamiento sobre el contenido de compuestos y propiedades antioxidantes del maíz (*Zea mays* L.) negro, frejol (*Phaseolus vulgaris* L.) negro, sangorache (*Amaranthus quitensis* L.) y variedades de papas nativas (*tuberosum* grupo andigenum). [Tesis Ing. de alimentos]. Ecuador, Ambato: Universidad Técnica de Ambato; 2013. 105 p.
 25. Segev, A., Badani, H., Galili, L., Hovav, R., Kapulnik, Y., Shomer, I., Galili, S. Total phenolic content and antioxidant activity of chickpea (*Cicer arietinum* L.) as affected by soaking and cooking conditions. Journal food and nutrition sciences. 2011; 2(7):730-724.
 26. Rodríguez S, Fernández X. Prácticas de preparación y conservación de frejoles en familias costarricenses. Agronomía Mesoamericana. 2015; 26: 164-153.
 27. Torres T. Estudio químico y anatómico de dos variedades de frejol (*Phaseolus vulgaris* L.) cambios postcosecha. [Tesis Doctoral en alimentos]. Nuevo León, San Nicolás de los Garza: Universidad Autónoma de Nuevo León; 2001. 115p.
 28. Sánchez M, Sánchez N, Dávila G, Jiménez C. Efecto de la cocción sobre la capacidad antioxidante y quelante de la semilla de garbanzo. Agrociencia. México. 2005; 32:745-740.
 29. Sutivisedsak N, Cheng H, Willett L, Lesch C, Tangsrud R, Biswas A. Microwave-assisted extraction of phenolics from bean (*Phaseolus*

- vulgaris* L.). Food research International. 2010; 43(2): 519-516.
30. Yasmin, A., Wajid, A., Gholam, M., Amal, B. Effect of processing on anti-nutritional factors of red kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) grains. Food Bioprocess Technology. 2008. 4:419-415.
 31. Mi S, Jun L, Je C, Sun C, Sang N, Known S, Sang L, Nak S, Seok P. Antioxidant and free radical scavenging activity of methanol extract of chungkukjang. Journal of food composition and analysis. 2007; 20(2):118-113.
 32. Chaudhary R, Sharma S. Conventional nutrients and antioxidants in red kidney beans (*Phaseolus vulgaris* L.): an explorative and product development endeavour. Food science and technology. 2013; 14(2): 285 – 275.
 33. Silva L. Estudio de la digestibilidad de carbohidratos y capacidad antioxidante de leguminosas de mayor consumo en México. [Tesis maestría en desarrollo de productos bióticos]. México: Instituto Politécnico Nacional; 2007. 120 p.
 34. Minetto S, Gerage M, Mansi N, Salgado M. Quantificação de fenólicos totais e da atividade antioxidante do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) sob efeito de diferentes métodos de cocção e maceração. 64. Simpósio internacional de iniciação científica da usp. 2008. Anais. Piracicaba: USP.
 35. Tejada S. Caracterização química, a determinação da capacidade antioxidante e o efeito do cozimento em genótipos elite de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). [Tesis Lic. en Química]. México, Sartenejas: Universidad Simón Bolívar; 2013. 108p.
 36. Dueñas M, Estrella I, Hernandez T. Occurrence of phenolic compounds in the seed coat and the cotyledon of peas (*Pisum sativum* L.). European Food Research and Technology. 2004. 219(2):123-116.
 37. Masun G, Khandader L, Berthold J, Gates L, Peters K, Delong H, Hossain K. Anthocyanin, total polyphenols and antioxidant activity of common vean. American J. of food tech. 2011; 6(5):394-385.
 38. Gomes Da Silva A, Catelli L, Canniatti S. Caracterização físico-química, digestibilidade protéica e atividade antioxidante de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.). Alim. Nutr., Araraquara. 2009; 20 (4):598-591.
 39. Oomah D, Cardador A, Loaca P. Phenolics and antioxidative activities in common beans *Phaseolus vulgaris* L. J. Sci Food Agric. 2005; 85(6):942-935.
 40. Maya K. Caracterización física, nutricional y no nutricional de haba sometida a tratamiento térmico. [Tesis de maestría en ciencias químico biológicas]. México: Instituto Politécnico Nacional; 2009. 153 p.
 41. Dutra A. Atividade antioxidante total e polifenóis em feijões (*Phaseolus vulgaris*, L.) das cultivares brs supremo e brs pontal. [Tesis Ing. de Alimentos]. Brasil, Ceará: Universidade Federal do Ceará; 2009. 81 p.
 42. Xu J, Chang S. Total phenolic, phenolic acid, anthocyanin, flavan-3-ol, and flavonol profiles and antioxidant properties of pinto and black beans (*Phaseolus vulgaris* L.) as affected by thermal processing. J. of Agri. and food chem. - 2009; 57:4764-4754.
 43. Heimler D, Vignolini P, Dini MG, Romani A. Rapid tests to assess the antioxidant activity of *Phaseolus vulgaris* L. dry beans. J. of Agri. and Food Chem. 2005; 53(8):3053 -6.
 44. Madhujith T, Shahidi F. Antioxidant Potential of Pea Beans (*Phaseolus vulgaris* L.). J. of food science. 2005; 70:90-85.
 45. Luo Y, Xie W, Hao Z, Jin X, Wang Q. The impact of processing on in vitro bioactive compounds bioavailability and antioxidant activities in faba bean (*Vicia faba* L.) and azuki bean (*Vigna angularis* L.). International food research journal. 2014; 21(3):1031-7.
 46. Iniestra J, Ibarra F, Gallegos J, Rocha N, Gonzales R. Factores antinutricios y actividad antioxidante en variedades mejoradas de frejol común (*Phaseolus vulgaris*). Agrociencia. México. 2005; 39(6):603-10.
 47. Gawlik U, Kowalczyk D, Złotek U. Impact of germination time and type of illumination on the antioxidant compounds and antioxidant capacity of Lens culinaris sprouts Michał Swieca. Scientia Horticulturae. 2012; 140:95-87.
 48. Osorio P, Silva L, Bello L. Capacidad antioxidante y fracción indigerible de leguminosas de mayor consumo en México. V Congreso Internacional de Ingeniería Bioquímica. Memorias. Yautepec, CIIB. 2008. pp. 35-40.