

Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias



**Fecha de presentación:** Marzo 2012  
**Estación:** Experimental Santa Catalina  
**Programa/Departamento:** Nutrición y Calidad  
**Proyecto:** 21005270035

**Título:** Valorización de cultivos y materias primas para respaldar las certificaciones de origen; desarrollar y aplicar procesos tecnológicos y agroindustriales a través de sistemas integrados de calidad, sanidad e inocuidad, a lo largo de la cadena agroproductiva

**Resultado 2:** Investigar, desarrollar y optimizar procesos tecnológicos agroindustriales para la obtención de productos

**Actividad:** Número 1

**Título:** Evaluación la concentración, estabilidad y el efecto del procesamiento en las propiedades antioxidantes de maíz (*Zea mays L.*), frejol negro (*Phaseolus vulgaris L.*), sangorache (*Amaranthus quitensis L.*) y algunas variedades de papas nativas (*Tuberosum grupo andigenum*)

**Lugar:** Estación Experimental Santa Catalina  
**Ubicación Provincia:** Pichincha  
**Cantón:** Mejía  
**Parroquia:** Cutuglagua

**Autor:** Egda. Irma Tanquina (Universidad Técnica de Ambato)  
Carrera Ingeniería en Alimentos.

**Co-Autores:** Ing. Elena Villacrés (INIAP)  
Dr.Milton Ramos (UTA)

**Colaboradores:** Programa Nacional de Raíces y Tubérculos, Rubro papa  
Programa Nacional de leguminosas y Granos Andinos  
Programa Nacional de Maíz

**Fecha de inicio:** Abril 2012  
**Fecha de terminación:** Marzo 2013

**Presupuesto:** \$ 14. 615

**Fuente de financiamiento:** INIAP 615 (4,3 %)  
Senescyt 14 000 (95,7 %)

## Antecedentes

En los últimos años se ha incrementado el interés por parte de las industrias alimentarias y los consumidores por el concepto de alimento funcional. Este término hace referencia a alimentos o ingredientes que mejoran el estado general de salud y/o reducen el riesgo de enfermedad (Rafter, 2002). Se trata además de productos alimenticios que no solo mejoran el nivel y la calidad de vida sino ayuden a contrarrestar parte de las enfermedades causantes por los radicales libres (Roberfroid, 2002).

Los antioxidantes naturales son alimentos funcionales, compuestos principalmente por compuestos fenólicos que pueden estar presentes en todas las partes de la planta (Shahidi y Naczk, 1995). Estos pueden actuar como antioxidantes mediante dos mecanismos principales: a) como captadores de radicales libres, b) quelantes de metales. El grado de polimerización de los compuestos fenólicos tiene un marcado efecto sobre la actividad antioxidante. Así, los compuestos poliméricos son más potentes como antioxidantes que los monómeros (García, 2005). Debido a la gran diversidad de compuestos fenólicos dispersos en los tejidos vegetales, así como sus diferentes estructuras químicas, es necesario desarrollar un gran número de técnicas analíticas para su identificación y cuantificación (Martínez-Valverde *et ál.*, 2000).

En general los compuestos fenólicos son más estables en su ambiente natural, pero cuando los alimentos se procesan (calor, acidez, luz, oxígeno), o cuando son extraídos en disolución en aceites o en disolventes orgánicos, se vuelven mucho más lábiles. Así, se ha comprobado que los procesos de oxidación son acusados cuando se pierde la integridad celular, de forma que en alimentos vegetales triturados, la pérdida de compartimentación celular facilita el contacto de sustancias que pueden modificar estructuralmente, e incluso destruir los compuestos fenólicos. No todos los tipos de cocción afectan en la misma medida a los fenólicos, siendo necesario evaluar el efecto de este proceso en la pérdida de compuestos antioxidantes. Los compuestos fenólicos son muy lábiles y su estabilidad es muy variable en función de la estructura y composición de la matriz en la que se encuentran (Wrolstad, 2000; Delgado-Vargas & Paredes-López, 2003). Su estabilidad se ve afectada por el pH, las temperaturas de almacenamiento, presencia de enzimas, luz, oxígeno, estructura y concentración de antocianinas, y la presencia de otros compuestos como flavonoides, proteínas y minerales.

Muchos de los alimentos que consumimos cotidianamente ya sea por placer o hábito y también algunos que no suelen ser utilizados con frecuencia son ricos en ciertas sustancias llamadas antioxidantes. Para una dieta saludable es necesario conocer que estos componentes se encuentran en las frutas, los aceites vegetales, cereales, los granos y hortalizas.

Los datos bibliográficos sugieren que los antioxidantes están presentes en algunas especies vegetales pigmentadas como la uva, la mora, el mortiño, el maíz morado, el frejol negro, el sangorache y algunas variedades de papas nativas (Shahidi y Naczk, 1995). Evidencia de experimentos en laboratorio hechos en ratas y células de cáncer de colon en humanos sugieren que las antocianinas, reducen de manera apreciativa el crecimiento de células de cáncer en el colon (Papanikolaou & Branen, 2009).

El amaranto engloba una serie de especies de la familia de las *amarantáceas*, entre las que se incluye el ataco o sangorache como se conoce en Ecuador, generalmente cultivadas en la sierra. El sangorache cobra mucha importancia debido a su alto valor nutritivo y su adaptabilidad a diferentes ambientes (Peralta *et ál.*, 2008).

Entre las colecciones del Banco de Germoplasma del INIAP, se encuentran las del ataco o sangorache integrada por 114 accesiones de grano negro. El cual cobró importancia, a partir del año 2002, debido al interés de muchos sectores en el grano y colorante para la alimentación humana, además por la posibilidad de ser producido con enfoque orgánico y exportado a Europa y Estados Unidos (Peralta *et ál.*, 2008). El ataco es rico en pigmentos llamadas betalainas, las cuales guardan cierta relación con las antocianinas, (Pantanelli, 2000). Este grupo de compuestos además de ser inocuas y de mejorar la apariencia de los alimentos, pueden contribuir con propiedades antioxidantes para neutralizar especies reactivas de oxígeno que causan efectos deletéreos en macromoléculas como el ADN, las proteínas, los lípidos, etc., siendo esta una de las principales causas de enfermedades degenerativas (Gomez, 2000).

El fréjol es uno de los cultivos importantes de leguminosas en el mundo, y juega un papel primordial en la alimentación de gran parte de la población mundial, de manera muy especial de aquella que se encuentra en países industrializados (Serrano, 2004; Shree, 1999). En el Ecuador el consumo per cápita es de 10 Kg por persona al año. con un incremento en la tendencia al consumo de grano de color negro, para satisfacer esta demanda el Programa Nacional de Leguminosas y Granos Andinos de la Estación Experimental Santa Catalina en abril del 2010 conjunto con el PRONALEG y granos andinos, realizó el pre lanzamiento y entrega a los agricultores de la primera variedad mejorada de fréjol arbustivo de grano de color negro con el nombre de INIAP 482 Afroandino, para consumo directo y con potencial agroindustrial (enlatado). (Peralta, *et ál.*, 2011) El grano es una fuente importante de calorías, proteínas, vitaminas del complejo B como son la niacina, la riboflavina, el ácido fólico y la tiamina. Igualmente proporciona hierro, cobre, zinc, fósforo, magnesio, calcio y tiene un alto contenido en fibra. Esta leguminosa complementa a los cereales y demás alimentos ricos en carbohidratos, ya que aporta con nutrientes necesarios para el ser humano, además su ingesta contribuye a la disminución de los niveles de colesterol y riesgos de cáncer, (Nadal, 2004; Shree, 1999). En un estudio para determinar la aptitud de varios genotipos de fréjol para la industria de enlatado, Villacis *et ál.*, (2011), encontró que la línea G21-212, en estado crudo, presentó el mayor contenido de antocianinas (534,4 mg/100 g). Investigadores de la Universidad del Estado de Arizona examinaron los efectos del consumo diario de ½ taza de fréjol pinto en los factores de riesgo de la enfermedad coronaria, utilizando un estudio al azar con diseño cruzado. El consumo de fréjol pinto fue el único tratamiento que redujo significativamente el serum de colesterol total y colesterol LDL (Whinham, Hutchins & Johnston, 2007, citado por Papanikolaou & Branen, 2009).

El maíz constituye un alimento básico a nivel mundial tanto para el consumo humano como para la industria, los principales tipos de maíz que todavía se cultivan en la sierra del Ecuador se incluye racimo de uva, ésta raza se caracteriza por presentar granos redondos con pericarpio rojizo y púrpura, estrechamente agrupados para dar una apariencia de racimo de uva (Timothy, 1996), actualmente ha cobrado un especial interés debido a la existencia de un pigmento natural denominado *cianidina-3-β-glucosa*, el cual pertenece a las antocianinas, que ayudan a combatir el estrés oxidativo y las enfermedades degenerativas (Callejo, 2002).

En experimentos realizados con varios extractos de especies vegetales, se encontró que la cantidad de extracto de antocianina necesario para reducir el crecimiento de las células cancerosas en 50 % varió dependiendo de la procedencia de cada extracto. El derivado del maíz negro fue el más potente, de éste fue necesaria la menor cantidad de extracto (14 µm/ml de solución de crecimiento de célula) para cortar el crecimiento de las células a la mitad, (Papanikolaou & Branen, 2009).

Dentro de los compuestos naturales de origen vegetal con acción antioxidante, se encuentran las familias pertenecientes al grupo de los *compuestos fenólicos o polifenoles*, el de mayor espectro, no solo en cuanto a su actividad antioxidante, sino además en cuanto a su efecto bioactivo específico sobre determinadas patologías de carácter degenerativo en seres humanos.

Las papas nativas no solo tienen formas y colores vistosos, sino que también aportan cantidades importantes de nutrientes y compuestos funcionales, los cuales mejoran una o más funciones del organismo, más allá de un efecto nutricional adecuado. Los tubérculos de color oscuro, presentan altos contenidos de polifenoles. El cultivar Tushpa presenta el mayor valor con 646,3 mg/100 g, base seca (Villacrés *et ál.*, 2011). Los polifenoles, actúan como antioxidantes naturales, protegen al cuerpo humano del efecto dañino de los radicales libres, ayudan a combatir enfermedades degenerativas e inhiben la formación y crecimiento de tumores, (Yany, 2001; Andre, 2007 & Teow, 2007 citado por Monteros *et ál.*, 2010).

### **Justificación**

Naturalmente el organismo humano cuenta con un sistema de defensas antioxidantes representado fundamentalmente por ciertas enzimas. No obstante y dado el nivel de radicales libres que forma nuestro cuerpo, resulta indispensable la ingesta de antioxidantes en nuestra dieta. En la naturaleza solo los vegetales son capaces de sintetizar diversos antioxidantes, pero no todos los vegetales sintetizan antioxidantes del mismo tipo. Es aquí donde surge la necesidad de conocer las diferencias entre las fuentes vegetales de antioxidantes de nuestra dieta (especies), para de esta manera aprovechar los efectos que presentan, con el objeto de prevenir enfermedades de tipo degenerativo.

Existe consumidores cada vez interesados en alimentos más saludables y una industria que ha comprendido la potencialidad del mercado de los alimentos funcionales, en vista de esta demanda se ha iniciado a nivel mundial una intensa actividad investigadora en el área de estos nuevos alimentos, que deben consumirse dentro de la dieta habitual para conseguir efectos beneficiosos que van más allá de los requerimientos nutricionales tradicionales.

Por otro lado, muchas de las sustancias naturales presentes en los alimentos, son muy sensibles a los tratamientos utilizados en el procesado (calor, luz, acidez, oxígeno, etc.) destruyéndose parcialmente, mientras que otros se forman en distinta cantidad y tipo (melanoidinas) dependiendo de las condiciones del proceso y de la composición inicial de la matriz tratada. Además la variabilidad natural de las diferentes especies vegetales, induce grandes modificaciones químicas.

Debido a la gran diversidad de compuestos antioxidantes dispersos en los tejidos vegetales, así como sus diferentes estructuras químicas, es necesario desarrollar un gran número de técnicas analíticas que permitan la identificación y cuantificación de algunos compuestos con propiedades antioxidantes y el efecto sobre ellas de varios procesos y del almacenamiento.

### **Objetivo general**

- Evaluar la concentración, estabilidad y el efecto del procesamiento en las propiedades antioxidantes de maíz, frejol negro, sangorache, y algunas variedades de papas nativas.

## Objetivos Específicos

- Determinar la concentración de compuestos antioxidantes en las especies en estado crudo.
- Determinar las propiedades antioxidantes en las especies en estado crudo.
- Determinar el efecto del procesamiento sobre el contenido de compuestos antioxidantes.
- Determinar el efecto del procesamiento sobre las propiedades antioxidantes.
- Estimar la estabilidad de los extractos vegetales acuosos y etanólicos a diferentes condiciones de almacenamiento.

## 4.- MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1.- Materiales

**Cuadro 1.** Especies y fracciones vegetales a estudiarse

Nº	Especie/fracción de la planta	Color predominante
1	Grano de sangorache, línea 17728	Negro
2	Hojas de sangorache línea 17728	Púrpura
3	Panojas de sangorache línea 17728	Púrpura
4	Grano de maíz, raza racimo de uva (INIAP)	Negro
5	Grano de maíz, raza racimo de uva (Chachimbiro)	Negro
6	Tusa de maíz, raza racimo de uva (INIAP)	Negro
7	Tusa de maíz, raza racimo de uva (Chachimbiro)	Negro
8	Grano de fréjol, genotipo L. G21212	Negro
9	Grano de fréjol, variedad INIAP 482 (Afroandino)	Negro
10	Grano de fréjol, genotipo L. L8863	Negro
11	Papa, variedad INIAP Yana Shungo	Negro
12	Papa, variedad INIAP Puca Shungo	Púrpura
13	Papa, variedad nativa Roja	piel roja
14	Papa, variedad nativa Amarilla	piel y pulpa amarilla
15	Papa, Variedad nativa Tushpa	negra

### 4.2.- Reactivos

Metanol, reactivo Folin Ciocalteu's, Carbonato de sodio, Ácido gálico, Cloruro de aluminio, Ácido clorhídrico, Ácido ascórbico, Ácido metafosfórico, 2,6-dicloroindofenol, Fosfato de sodio, Ferricianuro de potasio, Ácido tricloroacético, butiladodihroxianisobutilato, 1,1-dipenil-2-picrylhidrazil, Cloruro ferroso, Ferrozina, Ácido etilenodiaminotetracético (EDTA).

### 4.3.- Equipos de laboratorio

Espectrofotómetro, Estufa *Memmert*, Centrifuga, Molino *Cuicinart Modelo DCG-20N*, pHmetro, Calentador de agua, Liofilizador *Labconco*, Autoclave, Balanza analítica.

## 5.- METODOLOGÍA

### Características del Sitio Experimental

- Laboratorio de Nutrición y Calidad, INIAP, Estación Experimental Santa Catalina.

#### Ubicación

Provincia: Pichincha  
Cantón: Mejía  
Parroquia: Cutuglagua

#### Situación Geográfica

Altitud: 3058 m  
Latitud: 00°22'S.  
Longitud: 78°23'O

### 5.1 Determinación de la concentración de compuestos antioxidantes en las especies en estado crudo.

**Especie vegetal: Sangorache**

**Factor en estudio:** Partes de la planta del sangorache.

**Cuadro 2.** Tratamientos para la determinación del contenido de compuestos antioxidantes en las tres partes más importantes del sangorache.

Tratamientos	Descripción
T1	Grano
T2	Inflorescencias (Panojas)
T3	Hojas

#### Unidad experimental

Estará constituida por 1 kg de cada componente a estudiarse.

#### Tipo de diseño

Se aplicará un diseño completamente al azar (DCA), con cuatro observaciones.

## Análisis estadístico

**Cuadro 3.** Esquema del análisis de varianza.

Fuente de variación	Grados de libertad
Total	11
Tratamientos	2
Error	9

## Manejo específico del experimento

Las hojas e inflorescencias fueron cosechadas a los 5 meses de la siembra, mientras que el grano se recolectó a los 7 meses de cultivo (2011), cuando la concentración de pigmentos de color púrpura es máxima (Enriquez, 2005). Posteriormente se liofilizó; los materiales y se guardaron en un recipiente hermético y de color oscuro. Las muestras se prepararon de acuerdo a los requerimientos específicos de cada análisis.

## Especie vegetal: Maíz

**Factor en estudio:** Componentes del maíz negro (grano y tusa).

**Cuadro 4.** Tratamientos para la determinación del contenido de compuestos antioxidantes del maíz y tusa.

Tratamientos	Descripción
T1	Grano de maíz, raza racimo de uva (INIAP)
T2	Tusa de la raza racimo de uva (INIAP)
T3	Grano de maíz, raza racimo de uva (Chachimbiro)
T4	Tusa de la raza racimo de uva (Chachimbiro)

## Unidad experimental

Estará constituida por 1 kg de grano y corontas

## Tipo de diseño

Se aplicará un diseño completamente al azar (DCA), con cuatro observaciones.

## Análisis estadístico

**Cuadro 5.** Esquema del análisis de varianza

Fuente de variación	Grados de libertad
Total	15
Tratamientos	3
Error	12

### Manejo específico del experimento

El grano de la raza racimo de uva es cultivado en la sección oriental de la EESC será proporcionado por el Programa de maíz, una vez que ha alcanzado la madurez, otra muestra de la raza racimo de uva será traída desde la parroquia de Chachimiro. El grano será separado de la tusa, las dos fracciones serán liofilizadas separadamente y preparadas de acuerdo a los requerimientos específicos de cada análisis.

### Especie vegetal: Fréjol

**Factor en estudio:** Genotipo de grano.

**Cuadro 5.** Tratamientos para la determinación del contenido de compuestos antioxidantes del frejol negro.

Tratamientos	Descripción
T1	Grano de fréjol, genotipo L. G21212
T2	Grano de fréjol, variedad INIAP 482(Afroandino)
T3	Grano de fréjol, genotipo L. L8863

### Unidad experimental

Estará constituida por 1 kg de grano de cada variedad o genotipo a estudiarse.

### Tipo de diseño

Se aplicará un diseño completamente al azar (DCA), con tres observaciones.

### Análisis estadístico

**Cuadro 7.** Esquema del análisis de varianza.

Fuente de variación	Grados de libertad
Total	11
Tratamientos	2
Error	9

### Manejo específico del experimento

Los materiales a estudiarse serán proporcionados por el Programa Nacional de Leguminosas y Granos Andinos. El grano será liofilizado y preparado de acuerdo a los requerimientos específicos de cada análisis.



**Especie vegetal:** Papa

**Factor en estudio:** Variedades de papas.

**Cuadro 8.** Tratamientos para la determinación del contenido de compuestos antioxidantes en algunas variedades de papas.

Tratamientos	Descripción
T1	Papa, variedad INIAP Yana Shungo
T2	Papa, variedad INIAP Puca Shungo
T3	Papa, variedad nativa Roja
T4	Papa, variedad nativa Amarilla
T5	Papa, Variedad nativa Tushpa

**Unidad experimental**

Estará constituida por 1 kg de cada variedad a estudiarse.

**Tipo de diseño**

Se aplicará un diseño completamente al azar (DCA), con cuatro observaciones.

**Análisis estadístico**

**Cuadro9.** Esquema del análisis de varianza.

Fuente de variación	Grados de libertad
Total	19
Tratamientos	4
Error	15

**Manejo específico del experimento**

Los materiales a estudiarse serán proporcionados por el Programa Nacional de Raíces y Tubérculos, rubro papa. Los tubérculos cosechados serán transportados al laboratorio, lavados con agua destilada, rebanados y liofilizados. Posteriormente, las muestras serán preparadas de acuerdo a los requerimientos específicos de cada análisis.

**Análisis funcional**

La significancia estadística en los tratamientos, orientará la aplicación de la prueba de Tukey al 5 %, para identificar las especies y componentes de la planta con un mayor contenido de compuestos antioxidantes.

## **Variables y Métodos de evaluación**

**Fenoles Totales:** Método de Taga, Miller & Pratt; citado por Christelle M. J. Agric. FoodChem. (2007)

Los extractos metanólicos se mezclarán con el reactivo Folin Ciocalteu's y carbonato de sodio saturado. Luego de 30 minutos de reacción, la absorbancia será leída a 765 nm.

**Flavonoides:** Método de Quettier-Deleuet *al.*, (2000)

Los extractos metanólicos se mezclarán con la mezcla cloruro de aluminio-metanol. Después de 10 min de reacción se leerá la absorbancia a 430 nm.

**Antocianinas totales:** Método de Giusti y Wrolstad (2001)

0,5 gramos de la muestra será tratada con metanol acidificado. Después de la centrifugación el residuo será nuevamente extraído con metanol acidificado. Se combinarán los sobrenadantes y se leerá la absorbancia a 530 nm.

**Antocianina monoméricas:** Método de Guisti & Wroldstad (2001)

Se aplicará el método del pH diferencial, empleando sistemas Tampón, un agente blanqueador, bisulfito y mediciones por espectroscopia de UV-visible.

**Color polimérico:** Método de Guisti & Wroldstad (2001) Mediante un barrido en el espectrofotómetro de UV/VIS de 420 a 700 nm contra un blanco de agua destilada

**Taninos:** Método de la A.O.A.C.(1964)

La determinación se realizará a partir de un extracto acuoso el cual reacciona con el reactivo Folin-Denis en medio alcalino. Se utilizará ácido tánico como estándar y se realizan las lecturas en un espectrofotómetro UV- VIS a 680 nm.

**Ácido ascórbico:** Se determinará por volumetría, según el método descrito por Klein & Perry (1982)

La muestra se mezcla con ácido metafosforico, y posteriormente se añade 2,6 dicloroindofenol y se lee absorbancia a 515 nm. El resultado se expresa como mg de ácido ascórbico por 100 g de materia seca.

**Vitamina E:** Método de Hakansson, (1987), citado por Vaca, (2008)

El procedimiento incluye la extracción en Soxhlet por 4 horas con hexano en presencia de BHT. Los componentes de la vitamina E serán separados en una columna Lichrosob Si -60-5 con hexano y disopropiléter como fase móvil, utilizando u detector de fluorescencia, fijado a 290 nm de excitación y 330 nm de emisión.

**Zinc:** Método de la A.O.A.(1980)

Las muestras serán incineradas y luego sometidas a digestión ácida, se aforarán a un volumen determinado y se realizará el análisis de cinc.

**Carotenos totales:** Método adaptado por Rodríguez – Amaya y Kimura, (2004)

Los carotenos totales se determinan espectrofotométricamente a 450 nm, basados en el coeficiente de extinción ( $E_{1\%}$ ) de estos compuestos en éter de petróleo.

## 5.2.- Determinación de las propiedades antioxidantes de las especies en estado crudo

**Especie vegetal:** Sangorache

**Factor en estudio:** Partes de la planta de sangorache.

**Cuadro 10.** Tratamientos para la determinación del contenido de compuestos antioxidantes en las tres partes más importantes del sangorache.

Tratamientos	Descripción
T1	Grano
T2	Inflorescencias (Panojas)
T3	Hojas

### Unidad experimental

Estará constituida por 1 kg de cada componente a estudiarse.

### Tipo de diseño

Se aplicará un diseño completamente al azar (DCA), con cuatro observaciones.

### Análisis estadístico

**Cuadro 11.** Esquema del análisis de varianza.

Fuente de variación	Grados de libertad
Total	11
Tratamientos	2
Error	9

### Manejo específico del experimento

Las hojas, panojas y granos liofilizados serán molidos separadamente a un tamaño de partícula 20 mesh. Con cada fracción de la planta se procederá a la preparación de extractos, mediante suspensión de la muestra en metanol al 80 %, agitación por 10 minutos, seguido de centrifugación por 15 minutos. El residuo se someterá a una segunda extracción con metanol. Se combinarán los sobrenadantes, se filtrarán y diluirán a 25 ml, procediéndose a determinar las propiedades antioxidantes.

**Especie vegetal: Maíz**

**Factor en estudio:** Componentes del maíz negro.

**Cuadro 12.** Tratamientos para la determinación del contenido de compuestos antioxidantes del maíz negro.

Tratamientos	Descripción
T1	Grano de maíz, raza racimo de uva (INIAP)
T2	Tusa de la raza racimo de uva(INIAP)
T3	Grano de maíz, raza racimo de uva (Chachimbiro)
T2	Tusa de la raza racimo de uva(Chachimbiro)

**Unidad experimental**

Estará constituida por 1 kg de grano y corontas

**Tipo de diseño**

Se aplicará un diseño completamente al azar (DCA), con cuatro observaciones.

**Análisis estadístico**

**Cuadro 13.** Esquema del análisis de varianza

Fuente de variación	Grados de libertad
Total	15
Tratamientos	3
Error	12

**Manejo específico del experimento**

El grano y las corontas liofilizadas serán molidas separadamente a un tamaño de partícula 20 mesh. Con cada fracción se procederá a la preparación de extractos, mediante suspensión de la muestra en metanol al 80 %, agitación por 10 minutos, seguido de centrifugación por 15 minutos. El residuo se someterá a una segunda extracción con metanol. Se combinarán los sobrenadantes, se filtrarán y diluirán a 25 ml, procediéndose a determinar las propiedades antioxidantes.

**Especie vegetal:** Fréjol

**Factor en estudio:** Genotipos de frejol.

**Cuadro 14.** Tratamientos para la determinación del contenido de compuestos antioxidantes del frejol negro.

Tratamientos	Descripción
T1	Grano de fréjol, genotipo L. G21212
T2	Grano de fréjol, variedad INIAP 482 (Afroandino)
T3	Grano de fréjol, genotipo L. L8863

### Unidad experimental

Estará constituida por 1 kg de grano de cada variedad o genotipo a estudiarse.

### Tipo de diseño

Se aplicará un diseño completamente al azar (DCA), con cuatro observaciones.

### Análisis estadístico

**Cuadro 15.** Esquema del análisis de varianza.

Fuente de variación	Grados de libertad
Total	11
Tratamientos	2
Error	9

### Manejo específico del experimento

Cada genotipo de grano será molido separadamente a un tamaño de partícula 20 mesh, se procederá a la preparación de extractos, mediante suspensión de la muestra en metanol al 80 %, agitación por 10 minutos, seguido de centrifugación por 15 minutos. El residuo se someterá a una segunda extracción con metanol. Se combinarán los sobrenadantes, se filtrarán y diluirán a 25 ml, procediéndose a determinar las propiedades antioxidantes.

### **Especie vegetal: Papa**

**Factor en estudio:** Variedades de papas.

**Cuadro 16.** Tratamientos para la determinación del contenido de compuestos antioxidantes de algunas variedades de papas.

<b>Tratamientos</b>	<b>Descripción</b>
T1	Papa, variedad INIAP Yana Shungo
T2	Papa, variedad INIAP Puca Shungo
T3	Papa, variedad nativa Roja
T4	Papa, variedad nativa Amarilla
T5	Papa, Variedad nativa Tushpa

### **Unidad experimental**

Estará constituida por 1 kg de cada variedad a estudiarse.

### **Tipo de diseño**

Se aplicará un diseño completamente al azar (DCA), con cuatro observaciones.

### **Análisis estadístico**

**Cuadro 17.** Esquema del análisis de varianza.

<b>Fuente de variación</b>	<b>Grados de libertad</b>
Total	19
Tratamientos	4
Error	15

### **Manejo específico del experimento**

Las variedades de papa liofilizadas, serán molidas separadamente a un tamaño de partícula 20 mesh, con la harina, se procederá a la preparación de extractos, mediante suspensión de la muestra en metanol al 80 %, agitación por 10 minutos, seguido de centrifugación por 15 minutos. El residuo se someterá a una segunda extracción con metanol. Se combinarán los sobrenadantes, se filtrarán y diluirán a 25 ml, procediéndose a determinar las propiedades antioxidantes.

### **Análisis funcional**

La significancia estadística en los tratamientos, orientará la aplicación de la prueba de Tukey al 5 %, para identificar las especies y componentes de la planta con mejores propiedades antioxidantes.

## **Variables y Métodos de evaluación**

**Rendimiento en la obtención de extractos:** Los extractos metanólicos serán liofilizados y pesados. La relación entre el peso del producto obtenido y la muestra original permitirá obtener el rendimiento en porcentaje.

**Determinación del poder reductor:** Método descrito por Oyaizy, (1986)

Los extractos de cada especie o fracción de la planta, serán mezclados con un buffer de fosfato de sodio y ferricianuro de potasio, la mezcla será incubada a 50°C por 20 minutos. Se añadirá ácido tricloroacético, la mezcla será centrifugada, a la capa sobrenadante se añadirá agua desionizada y cloruro férrico, se determinará la absorbancia a 700 nm.

**Efecto de bloqueo sobre el radical 1,1-difenil-2-picrylhidrazil:** Método de Shimada, Fujikawa, Yahara & Nakamura, (1992)

Los extractos metanólicos serán mezclados con una solución conteniendo 80 ppm de 1,1-difenil-2-picrylhidrazil (DPPH). La mezcla será agitada, posteriormente se dejará en reposo por 30 minutos en la oscuridad. Se medirá la absorbancia a 517 nm.

**Efecto quelante sobre el ion ferroso:** Método de Dinis, Madeira & Almerida, (1994)

Cada extracto será mezclado con cloruro ferroso y una solución de ferrocina. Después de 10 minutos de reacción, se leerá la absorbancia a 562 nm.

### **5.3 Determinación del efecto del procesamiento sobre el contenido y las propiedades antioxidantes de varias especies vegetales**

**Especie vegetal:** Sangorache

**Factores en estudio**

**Factor A:** Partes de la planta del sangorache

**Cuadro 18.** Componentes del sangorache.

<b>Código</b>	<b>Genotipo de grano</b>
a <sub>1</sub>	Grano
a <sub>2</sub>	Inflorescencias ( Panoja)
a <sub>3</sub>	Hojas

**Factor B:** Tipo de proceso

**Cuadro 19.** Procesos a aplicarse a los componentes del sangorache.

Código	Tipo de Proceso
b <sub>1</sub>	Remojo
b <sub>2</sub>	Cocción a presión normal
b <sub>3</sub>	Cocción con vapor

**Cuadro 20.** Tratamientos para la determinación del efecto de varios procesos sobre el contenido de compuestos y propiedades antioxidantes del sangorache.

Tratamientos	Descripción
a <sub>1</sub> b <sub>1</sub>	Grano sometido al proceso de remojo
a <sub>1</sub> b <sub>2</sub>	Grano sometido al proceso de cocción a presión normal
a <sub>1</sub> b <sub>3</sub>	Grano sometido a cocción con vapor
a <sub>2</sub> b <sub>1</sub>	Panoja sometida al proceso de remojo
a <sub>2</sub> b <sub>2</sub>	Panoja sometida al proceso de cocción a presión normal
a <sub>2</sub> b <sub>3</sub>	Panoja sometida a cocción con vapor
a <sub>3</sub> b <sub>1</sub>	Hojas sometidas al proceso de remojo
a <sub>3</sub> b <sub>2</sub>	Hojas sometidas al proceso de cocción a presión normal
a <sub>3</sub> b <sub>3</sub>	Hojas sometidas al cocción con vapor

### Unidad experimental

Estará constituida por 1 kg de cada componente de la planta a estudiarse.

### Tipo de diseño

Se aplicará un diseño completamente al azar en arreglo factorial 3x3, con tres repeticiones.

### Análisis estadístico

**Cuadro 21.** Esquema del análisis de varianza.

Fuente de variación	Grados de libertad
Total	26
Factor A	2
Factor B	2
A x B	4
Error	18

### Manejo específico del experimento

Mediante pruebas preliminares se determinó los parámetros tecnológicos que se aplicarán para el procesamiento del grano y otras fracciones de la planta (Cuadro 22). Para los procesos de remojo, cocción a presión normal y con vapor, se empleará agua potable, manteniendo una



relación agua/grano igual a 3:1 en el proceso de remojo y 10: 1 en los procesos de cocción. Este último se realizara con el grano previamente remojado por 16 horas.

**Cuadro 22.** Parámetros tecnológicos para el procesamiento del grano, hojas y panojas del sangorache.

<b>Grano</b>		
<b>Parámetros</b>	<b>Tiempo</b>	<b>°T</b>
Remojo	16 horas	17°C
Cocción a presión normal	60 minutos	91 °C
Cocción con vapor	15 minutos	130 °C
<b>Hojas y panojas</b>		
Remojo	4 horas	17°C
Cocción a presión normal	15 minutos	91 °C
Cocción con vapor	15 minutos	110°C

**Especie Vegetal: Maíz**

**Factores en estudio**

**Factor A:** Grano de maíz negro

**Cuadro 23.** Genotipos de maíz

<b>Código</b>	<b>Genotipo de grano</b>
a <sub>1</sub>	Grano de la raza racimo de uva (INIAP)
a <sub>2</sub>	Grano de la raza racimo de uva (Chachimbiro)

**Factor B:** Tipo de proceso

**Cuadro 24.** Procesos a aplicarse al grano de maíz negro

<b>Código</b>	<b>Tipo de Proceso</b>
b <sub>1</sub>	Remojo
b <sub>2</sub>	Cocción a presión normal
b <sub>3</sub>	Cocción con vapor
b <sub>4</sub>	Perlado del grano

**Cuadro 25.** Tratamientos para la determinación del efecto de varios procesos sobre el contenido de compuestos y propiedades antioxidantes del grano de maíz negro

Tratamientos	Descripción
a <sub>1</sub> b <sub>1</sub>	Grano de la raza racimo de uva (INIAP), sometido al proceso de remojo
a <sub>1</sub> b <sub>2</sub>	Grano de la raza racimo de uva (INIAP), sometido al proceso de cocción a presión normal
a <sub>1</sub> b <sub>3</sub>	Grano de la raza racimo de uva (INIAP), sometido a cocción con vapor
a <sub>1</sub> b <sub>4</sub>	Grano de la raza racimo de uva (INIAP), sometido a perlado
a <sub>2</sub> b <sub>1</sub>	Grano de la raza racimo de uva (Chachimbiro), sometido al proceso de remojo
a <sub>2</sub> b <sub>2</sub>	Grano de la raza racimo de uva (Chachimbiro), sometido al proceso de cocción a presión normal
a <sub>2</sub> b <sub>3</sub>	Grano de la raza racimo de uva (Chachimbiro), sometido a cocción con vapor
a <sub>2</sub> b <sub>4</sub>	Grano de la raza racimo de uva (Chachimbiro), sometido a perlado

### Unidad experimental

Estará constituida por 1 kg de cada genotipo de grano

### Tipo de diseño

Se aplicará un diseño completamente al azar en arreglo factorial 2x4, con tres repeticiones.

### Análisis estadístico

**Cuadro 26.** Esquema del análisis de varianza

Fuente de variación	Grados de libertad
Total	23
Factor A	1
Factor B	3
A x B	3
Error	16

### Manejo específico del experimento

Mediante pruebas preliminares se determinó los parámetros tecnológicos que se aplicarán para el procesamiento del grano (Cuadro 27). Para los procesos de remojo, cocción a presión normal y con vapor, se empleará agua potable, manteniendo una relación agua: grano igual a 3: 1 en el proceso de remojo y 10: 1 en los procesos de cocción. El grano será sometido a perlado durante 1 minuto, con el fin de eliminar el pericarpio o cáscara.

**Cuadro 27.** Parámetros tecnológicos para el procesamiento del grano de maíz y tusa.

Grano		
Parámetros	Tiempo	°T
Remojo	10 horas	17°C
Cocción a presión normal	40 minutos	91 °C
Cocción con vapor	6 minutos	120 °C
Perlado	1 min.	
Tusa		
Remojo	10 horas	17°C
Cocción a presión normal	20 minutos	91 °C

### Factores en estudio

**Factor A:** Tusa del maíz.

**Cuadro 28.** Procedencia de las Tusa del maíz

Código	Genotipo de grano
a <sub>1</sub>	Tusa de la raza racimo de uva (INIAP)
a <sub>2</sub>	Tusa variedad sangre de Cristo (Chachimbiro)

**Factor B:** Tipo de proceso

**Cuadro 29.** Procesos a aplicarse a las tusa del maíz

Código	Tipo de Proceso
b <sub>1</sub>	Remojo en agua
b <sub>2</sub>	Remojo en la mezcla agua (50 %)-etanol (50 %)
b <sub>3</sub>	Remojo en la mezcla agua (70 %)- etanol (30 %)
b <sub>4</sub>	Cocción a presión normal

**Cuadro 30.** Tratamientos para la determinación del efecto del proceso sobre el contenido y propiedades antioxidantes de las corontas del maíz.

Tratamientos	Tipo de Proceso
a <sub>1</sub> b <sub>1</sub>	Tusa de la raza racimo de uva (INIAP), sometido a remojo en agua
a <sub>1</sub> b <sub>2</sub>	Tusa de la raza racimo de uva (INIAP), sometido a remojo en la mezcla agua (50 %)-etanol (50 %)
a <sub>1</sub> b <sub>3</sub>	Tusa de la raza racimo de uva (INIAP), sometido a remojo en la mezcla agua (70 %)-etanol (30 %)
a <sub>1</sub> b <sub>4</sub>	Tusa de la raza racimo de uva (INIAP), sometido a cocción a presión normal
a <sub>2</sub> b <sub>1</sub>	Tusa de la raza racimo de uva (Chachimbiro), sometido a remojo en agua
a <sub>2</sub> b <sub>2</sub>	Tusa de la raza racimo de uva (Chachimbiro), sometido a remojo en la mezcla agua (50 %)-etanol (50 %)
a <sub>2</sub> b <sub>3</sub>	Tusa de la raza racimo de uva (Chachimbiro), sometido a remojo en la mezcla agua (70 %)-etanol (30 %)
a <sub>2</sub> b <sub>4</sub>	Tusa de la raza racimo de uva (Chachimbiro), sometido a cocción a presión normal

### Unidad experimental

Estará constituida por 1 kg de tusa.

### Tipo de diseño

Se aplicará un diseño completamente al azar, en arreglo factorial 2x4, con tres repeticiones.

### Análisis estadístico

**Cuadro 31.** Esquema del análisis de varianza.

Fuente de variación	Grados de libertad
Total	23
Factor A	1
Factor B	3
A x B	3
Error	16

### Manejo específico del experimento

Mediante pruebas preliminares se determinó los parámetros tecnológicos que se aplicarán para el procesamiento de la tusa (Cuadro 32). Para los procesos de remojo se mantendrá una relación líquido/corontas igual a 3: 1

**Cuadro 32.** Tratamientos tecnológicos para el procesamiento de la tusa del maíz.

Tusa		
Parámetros	Tiempo	°T
Remojo	10 horas	17°C
Remojo en la mezcla agua (50 %)-etanol (50 %)	10 horas	17°C
Remojo en la mezcla agua (70 %)- etanol (30 %)	10 horas	17°C
Cocción a presión normal	20 minutos	91 °C

**Especie vegetal: Fréjol**

**Factores en estudio**

**Factor A:** Genotipos de fréjol.

**Cuadro 33.** Genotipos de fréjol.

Código	Genotipo de grano
a <sub>1</sub>	Grano de fréjol, genotipo L. G21212
a <sub>2</sub>	Grano de fréjol, variedad INIAP 482
a <sub>3</sub>	Grano de fréjol, genotipo L. L8863

**Factor B:** Tipo de proceso

**Cuadro 34.** Procesos a aplicarse al grano de fréjol.

Código	Tipo de Proceso
b <sub>1</sub>	Remojo
b <sub>2</sub>	Cocción a presión normal
b <sub>3</sub>	Cocción con vapor
b <sub>4</sub>	Perlado del grano

**Cuadro 35.** Tratamientos para la determinación del efecto de varios procesos sobre el contenido de compuestos y propiedades antioxidantes del fréjol negro.

Tratamientos	Descripción
a <sub>1</sub> b <sub>1</sub>	Genotipo L. G21212, sometido al proceso de remojo
a <sub>1</sub> b <sub>2</sub>	Genotipo L. G21212, cocción a presión normal
a <sub>1</sub> b <sub>3</sub>	Genotipo L. G21212, cocción con vapor
a <sub>1</sub> b <sub>4</sub>	Genotipo L. G21212, sometido a perlado
a <sub>2</sub> b <sub>1</sub>	variedad INIAP 482, remojo
a <sub>2</sub> b <sub>2</sub>	variedad INIAP 482, cocción a presión normal
a <sub>2</sub> b <sub>3</sub>	variedad INIAP 482, cocción con vapor
a <sub>2</sub> b <sub>4</sub>	Variedad INIAP 482, sometido a perlado
a <sub>3</sub> b <sub>1</sub>	Genotipo L. L8863, remojo
a <sub>3</sub> b <sub>2</sub>	Genotipo L. L8863, cocción a presión normal
a <sub>3</sub> b <sub>3</sub>	Genotipo L. L8863, cocción con vapor
a <sub>3</sub> b <sub>4</sub>	Genotipo L. L8863, sometido a perlado

**Unidad experimental**

Estará constituida por 1 kg de cada genotipo de grano.

### Tipo de diseño

Se aplicará un diseño completamente al azar en arreglo factorial 3x4, con tres repeticiones.

### Análisis estadístico

**Cuadro 36.** Esquema del análisis de varianza.

Fuente de variación	Grados de libertad
Total	35
Factor A	2
Factor B	3
A x B	6
Error	27

### Manejo específico del experimento

Mediante pruebas preliminares se determinó los parámetros tecnológicos que se aplicarán para el procesamiento del grano (Cuadro 37). Para los procesos de remojo, cocción a presión normal y con vapor, se empleará agua potable, manteniendo una relación agua/grano igual a 3:1 en el proceso de remojo y 10:1 en los procesos de cocción. El grano será sometido a perlado durante un minuto, con el fin de eliminar la cubierta o testa.

**Cuadro 37.** Parámetros tecnológicos para el procesamiento de varios genotipos de fréjol.

Grano		
Parámetros	Tiempo	°T
Remojo	12 horas	17°C
Cocción a presión normal ((728.1 mb ó 546 mmHg)	40 minutos	91 °C
Cocción con vapor (103 kPa)	6 minutos	120 °C

### Especie vegetal: Papa

#### Factores en estudio

**Factor A:** Variedades de papas.

**Cuadro 38.** Variedades de papas.

Código	Genotipo de grano
a <sub>1</sub>	Papa, variedad INIAP Yana Shungo
a <sub>2</sub>	Papa, variedad INIAP Puca Shungo
a <sub>3</sub>	Papa, variedad nativa Roja
a <sub>4</sub>	Papa, variedad nativa Amarilla
a <sub>5</sub>	Papa, Variedad nativa Tushpa

**Factor B:** Tipo de proceso

**Cuadro 39.** Procesos a aplicarse a la papa nativa

Código	Tipo de Proceso
b <sub>1</sub>	Pelado
b <sub>2</sub>	Cocción a presión normal
b <sub>3</sub>	Cocción con vapor
b <sub>4</sub>	Horneo

**Cuadro 40.** Tratamientos para la determinación del efecto de varios procesos sobre el contenido de compuestos y propiedades antioxidantes de la papa.

Tratamientos	Descripción
a <sub>1</sub> b <sub>1</sub>	Yana Shungo, sometida al proceso de pelado (cocida)
a <sub>1</sub> b <sub>2</sub>	Yana Shungo, cocción a presión normal (cascara)
a <sub>1</sub> b <sub>3</sub>	Yana Shungo, cocción con vapor
a <sub>1</sub> b <sub>4</sub>	Yana Shungo, horneo
a <sub>2</sub> b <sub>1</sub>	Puca Shungo, sometida al proceso de pelado (cocida)
a <sub>2</sub> b <sub>2</sub>	Puca Shungo, cocción a presión normal (cascara)
a <sub>2</sub> b <sub>3</sub>	Puca Shungo, cocción con vapor
a <sub>2</sub> b <sub>4</sub>	Puca Shungo, horneo
a <sub>3</sub> b <sub>1</sub>	Variedad Roja, sometida al proceso de pelado (cocida)
a <sub>3</sub> b <sub>2</sub>	Variedad Roja, cocción a presión normal (cascara)
a <sub>3</sub> b <sub>3</sub>	Variedad Roja, cocción con vapor
a <sub>3</sub> b <sub>4</sub>	Variedad Roja, horneo
a <sub>4</sub> b <sub>1</sub>	Variedad Amarilla, sometida al proceso de pelado (cocida)
a <sub>4</sub> b <sub>2</sub>	Variedad Amarilla, cocción a presión normal (cascara)
a <sub>4</sub> b <sub>3</sub>	Variedad Amarilla, cocción con vapor
a <sub>4</sub> b <sub>4</sub>	Variedad Amarilla, horneo
a <sub>5</sub> b <sub>1</sub>	Tushpa, sometida al proceso de pelado (cocida)
a <sub>5</sub> b <sub>2</sub>	Tushpa, cocción a presión normal (cascara)
a <sub>5</sub> b <sub>3</sub>	Tushpa, cocción con vapor
a <sub>5</sub> b <sub>4</sub>	Tushpa, horneo

**Unidad experimental**

Estará constituida por 1 kg de cada variedad de papa.

**Tipo de diseño**

Se aplicará un diseño completamente al azar en arreglo factorial 5x4, con tres repeticiones.

## Análisis estadístico

**Cuadro 41.** Esquema del análisis de varianza.

Fuente de variación	Grados de libertad
Total	59
Factor A	4
Factor B	3
A x B	12
Error	40

## Manejo específico del experimento

Mediante pruebas preliminares se determinó los parámetros tecnológicos que se aplicarán para el procesamiento del tubérculo (Cuadro 42). El pelado se realizará mediante un sistema abrasivo hasta completa eliminación de la cáscara. Para el horneo, los tubérculos enteros (con cáscara) de tamaño medio (41-60 g), serán envueltos en papel aluminio y sometidos al proceso a 250°C durante 40 minutos. Para los procesos de cocción a presión normal y con vapor, se empleará agua potable, manteniendo una relación agua/tubérculo igual a 10: 1.

**Cuadro 42.** Parámetros tecnológicos para el procesamiento de algunas variedades de papa.

Tubérculo		
Parámetros	Tiempo	°T
Pelado	Sistema abrasivo	
Cocción a presión normal (728.1 mb ó 546 mmHg)	25 minutos	91 °C
Cocción con vapor (103 kPa)	8 minutos	110 °C
Horneo	40 minutos	250°C

## Variables y métodos de evaluación

Variables a evaluarse: Fenoles totales, Flavonoides, Antocianinas totales y Monoméricas, Carotenoides totales, Vitamina C, Vitamina E, Zinc, Poder reductor, Efecto de bloqueo sobre el radical DPPH, Efecto quelante sobre el ion ferroso. Los fundamentos de los métodos de ensayo se describen en 5.1 y 5.2.



**5.4 Evaluación de la estabilidad de los extractos a diferentes condiciones de almacenamiento.**

**Factores en estudio: Tipo de extracto, efecto de exposición a la luz**

**Cuadro 43.** Factores en estudio para evaluar el efecto de exposición a la luz, sobre la estabilidad de los extractos de sangorache.

Factor	Descripción	Niveles del factor	Descripción del nivel
A	Tipo de extracto	a <sub>1</sub>	Extracto acuoso
		a <sub>2</sub>	Extracto etanólico
B	Efecto de la luz	b <sub>1</sub>	Expuesto a la luz solar
		b <sub>2</sub>	Almacenado en la oscuridad
		b <sub>3</sub>	Exposición a la luz UV (256 nm)

**Cuadro 44.** Tratamientos para evaluar el efecto de la luz sobre la estabilidad de los extractos de sangorache.

Tratamientos	Descripción
a <sub>1</sub> b <sub>1</sub>	Extracto acuoso, expuesto a la luz solar
a <sub>1</sub> b <sub>2</sub>	Extracto acuoso, almacenado en la oscuridad
a <sub>1</sub> b <sub>3</sub>	Extracto acuoso, expuesto a la luz UV
a <sub>2</sub> b <sub>1</sub>	Extracto etanólico, expuesto a la luz solar
a <sub>2</sub> b <sub>2</sub>	Extracto etanólico, almacenado en la oscuridad
a <sub>2</sub> b <sub>3</sub>	Extracto etanólico, expuesto a la luz UV

**Factores en estudio: Tipo de extracto, efecto de la temperatura de almacenamiento.**

**Cuadro 45.** Factores en estudio para evaluar el efecto de la temperatura de almacenamiento sobre la estabilidad de los extractos de sangorache.

Factor	Descripción	Niveles del factor	Descripción del nivel
A	Tipo de extracto	a <sub>1</sub>	Extracto acuoso
		a <sub>2</sub>	Extracto etanólico
B	Efecto de la luz	b <sub>1</sub>	Almacenamiento a 5°C
		b <sub>2</sub>	Almacenamiento a 20°C
		b <sub>3</sub>	Almacenamiento a 60°C

**Cuadro 46.** Tratamientos para evaluar el efecto de la temperatura de almacenamiento sobre la estabilidad de los extractos de sangorache.

Tratamientos	Descripción
a <sub>1</sub> b <sub>1</sub>	Extracto acuoso, almacenado a 5°C
a <sub>1</sub> b <sub>2</sub>	Extracto acuoso, almacenado a 20°C
a <sub>1</sub> b <sub>3</sub>	Extracto acuoso, almacenado a 60°C
a <sub>2</sub> b <sub>1</sub>	Extracto etanólico, almacenado a 5°C
a <sub>2</sub> b <sub>2</sub>	Extracto etanólico, almacenado a 20°C
a <sub>2</sub> b <sub>3</sub>	Extracto etanólico, almacenado a 60°C

### Unidad experimental

Estará constituida por 1 kg de muestra (panojas o glomérulos).

### Tipo de diseño

Para los tratamientos descritos en los cuadros 42 y 44, se aplicará un diseño completamente al azar en arreglo factorial 2x3, con tres repeticiones.

### Análisis estadístico

**Cuadro 47.** Esquema del análisis de varianza para determinar el efecto de la exposición a la luz sobre los extractos de sangorache.

Fuente de variación	Grados de libertad
Total	17
Factor A	1
Factor B	2
A x B	2
Error	12

**Cuadro 48.** Esquema del análisis de varianza para determinar el efecto de la temperatura sobre los extractos de sangorache.

Fuente de variación	Grados de libertad
Total	17
Factor A	1
Factor B	2
A x B	2
Error	12

### Manejo específico del experimento

Los resultados obtenidos en 5.1 y 5.2, orientarán a identificar el componente de la planta, la variedad o genotipo con mayor contenido de compuestos y propiedades antioxidantes. A partir de los cuales, se procederá a la preparación de extractos, utilizando como solventes agua o etanol.

### **Variables y métodos de evaluación**

Se monitoreará la estabilidad de los extractos cada tres días durante 21 días, se registrará el espectro de absorción UV-VIS (200-600 nm) de cada extracto, anotando la longitud de onda de máxima absorción en cada punto de muestreo y la absorción a 430 nm, longitud de onda de máxima absorción de los extractos frescos. De igual forma se evaluará la estabilidad de los extractos de maíz negro, frejol y papa nativa.

6.- CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

#	ACTIVIDADES	2012										2013		
		A	M	J	JL	A	S	O	N	D	E	F	M	
1	Revisión bibliográfica.	X	X											
2	Ensayos de factibilidad técnica.		X											
3	Muestreo y Estabilización de las especies vegetales		X	X										
4	Estandarización de métodos de ensayo		X	X										
5	Determinación la concentración de compuestos antioxidantes en las especies en estado crudo			X	X	X	X	X						
6	Determinación las propiedades antioxidantes en las especies en estado crudo					X	X	X	X					
7	Determinación el efecto del procesamiento sobre el contenido de compuestos antioxidantes						X	X	X	X	X			
8	Determinar el efecto del procesamiento sobre las propiedades antioxidantes del maíz y el frejol negro, el sangorache y varias papas nativas.									X	X	X	X	
9	Evaluar la estabilidad de los extractos vegetales acuosos y etanólicos a diferentes condiciones de almacenamiento										X	X	X	
10	Tabulación y análisis de resultados.						X	X	X	X	X	X	X	X
11	Escritura y publicación de resultados.						X	X	X	X	X	X	X	X

## 7.-PRESUPUESTO

CONCEPTO	UNIDAD	CANTIDAD	COSTO UNITARIO	COSTO TOTAL	APORTE		
<b>A. Personal</b>						Senescyt	INIAP
Tesista	1	12	\$ 400,00	\$ 4.800,00	\$ 4.800,00		
<b>B. Recursos Variables</b>							
<b>B1. Materia Prima</b>							
Grano de sangorache, línea 17758. Color negro	kg	5	\$ 3,00	\$ 15,00			
Hojas de sangorache, línea 17758. Color púrpura	kg	5	\$ 3,00	\$ 10,00			
Panojas de sangorache, línea 17758. Color púrpura	kg	4	\$ 2,50	\$ 10,00			
Grano de maíz, raza racimo de uva. Color negro	kg	5	\$ 3,00	\$ 10,00			
Grano de maíz, variedad sangre de Cristo. Color rojo	kg	5	\$ 3,00	\$ 10,00			
Grano de fréjol, genotipo G21212. Color negro	kg	5	\$ 3,00	\$ 15,00			
Grano de fréjol, variedad INIAP 482. Color negro	kg	5	\$ 3,00	\$ 15,00			\$ 135,00
Genotipo de fréjol, Cándor. Color negro	kg	5	\$ 3,00	\$ 15,00			
Grano de fréjol, genotipo L8863. Color negro	kg	5	\$ 3,00	\$ 15,00			
Papa nativa, variedad Yana Shungo. Color negro	kg	5	\$ 0,80	\$ 4,00			
Papa nativa, variedad Puca Shungo. Color púrpura	kg	5	\$ 0,80	\$ 4,00			
Papa nativa, variedad roja. Piel roja	kg	5	\$ 0,80	\$ 4,00			
Papa nativa, variedad Amarilla. Piel y pulpa amarilla	kg	5	\$ 0,80	\$ 4,00			
Papa nativa, variedad Tushpa. Color púrpura	kg	5	\$ 0,80	\$ 4,00			
<b>B2. Análisis</b>							
Análisis de la Vitamina E	U	15	\$ 30,00	\$ 450,00	\$ 517,05		
Análisis del Zinc	U	15	\$ 4,47	\$ 67,05			
<b>B3. Reactivos</b>							
Quercetin 3-β-D-glucoside, ≥ 90% pureza (HPLC)	mg	50	\$ 219,44	\$ 219,44			
1,1-diphenyl-2,2-picrylhydrazyl, gradop.a (sinónimo 2,2-diphenyl-2-picrylhydrazul radical)	g	5	\$ 146,30	\$ 731,50			
Disulfito K	g	500	\$ 0,27	\$ 135,46			
Etanol 93,5%	lt	20	\$ 7,76	\$ 155,25			
Disodio-hidrogenofosfato	lt	2	\$ 58,00	\$ 116,00			
Follin	lt	2,5	\$ 96,00	\$ 240,00			
N-Benzoil arginina	g	5	\$ 88,00	\$ 440,00	\$ 3.182,35		
Eter de petróleo 1.01769.1000	lt	1	\$ 150,00	\$ 150,00			
2,6-Dicloroindofenol 5 g 1.03028.0005	g	1	\$ 125,25	\$ 125,25			
Acido metafosfónico p.a 100 g 1.00546.0100	g	1	\$ 121,50	\$ 121,50			
Acido acético p.a frasco de vidrio 2,5 lt 1.00063.2500	lt	2	\$ 231,10	\$ 462,20			
Acido L-ascorbico p.a A5960-100G	g	100	\$ 0,80	\$ 80,25			
Acido clorhídrico p.a 2,5 lt. 1.00319.2500	lt	2	\$ 102,75	\$ 205,50			
Metanol p.a	lt	10	\$ 43,00	\$ 430,00	\$ 1.600,00		
Acetona 2,5 lt. 1.00014.2500	lt	2	\$ 169,50	\$ 339,00			
Hexano p.a 2,5 lt 1.04374.2500	lt	2	\$ 417,00	\$ 831,00			
<b>B4. Equipos y Materiales</b>							
Rollos de parafilm ancho 4 pulgadas largo 125 ft/rl	rl	4	\$ 50,00	\$ 200,00			
Pipetas monocal eppendor catalogo 9.283.553	50-1000 ul	1	\$ 800,00	\$ 800,00			
catalogo 9.283.551	5-100 ul	1	\$ 800,00	\$ 800,00	\$ 3.820,60		
Lámpara UV	U	1	\$ 1.000,00	\$ 1.000,00			
Botellas de vidrio borosilicato con tapa PVC, boca ancha, autoclabables	U	36	\$ 28,35	\$ 1.020,60			
<b>B5. Muestreo materia prima</b>							
Muestras	U	4	\$ 120,00	\$ 480,00			\$ 480,00
<b>C. Publicación Proyecto</b>							
Tesis	Ejemplar	8	\$ 10,00	\$ 80,00	\$ 80,00		
<b>TOTAL</b>				\$ 14.615,00			
<b>FUENTE DE FINANCIAMIENTO</b>		Organización	Porcentaje	Aporte			
		Senescyt	95.7%	\$ 14.000,00			
		INIAP	4.3%	\$ 615,00			
		<b>TOTAL</b>	100%	\$ 14.615,00			

## 8.-BIBLIOGRAFÍA

1. A.O.A.C. (Association of official Analytical Chemist), 1964, 1980. Métodos de la A.O.A.C. Peer Verified Methods. Manual on Polices and procedures, Arlington, Estados Unidos.
2. Blot WJ, Li JY, Taylor PR, et al. Nutrition intervention trials in Linxian, China: supplementation with specific vitamin/mineral combinations, cancer incidence, and disease-specific mortality in the general population. *J Natl Cancer Inst* 1993;85:1483-91.
3. Callejo, M. J. 2002. Industrias de Cereales y derivados. Madrid – España . Editorial Mundi –PrensaLibros, S.A Impresolragra, S.A., Bardala. Pp . 18- 19.
4. Chistelle M. Andre, Marc G, Pierre B, Mouhssin O, Maria del Rosario H, Lucien H, Jean – Francois H, Van L, y Daniele E. 2007. *Andean Potato Cultivars Mineral Micronutrients*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Pp 369 366-378
5. Delgado-Vargas, F. y Paredes-López, O. 2003. *Natural Colorants for Food and Nutraceuticals Uses*. CRC Press, Boca Raton, Florida.
6. Dinis, T. C. P., Madeira, V. M. C. Almerida, L. M. 1994. *Action of Phenolics derivatives (acetaminophen, salicylate and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers*. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. pp 315, 161-169.
7. Enríquez Machado Carlos Alberto. 2005. Estudio de la extracción y estabilidad del colorante del ataco (*Amaranthushybridus*) con potencial de aplicación como aditivo alimentario. Doctor en bioquímica y farmacia. Riobamba-Ecuador. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
8. García A. 2005. Evaluación in vitro e in vivo de la funcionalidad de un producto rico en antioxidantes. Tesis Doctoral. España. Universidad de Murcia.
9. Gómez E. 2000. El Betabel –Remolacha – Beterraga., Alimentos que curan.- Argentina. Volumen 2., pg 15 – 22
10. Grabitske HA, Slavin JL (2008). Low-Digestible Carbohydrates in Practice. *Journal of the American Dietetic Association* 108(10):1677-1681
11. Giusti, M. M., Wrolstad, R. E. 2001. *Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy*. In R. E. Wrolstad, T. E. Acree, H. An, E. A. Decker, M. H. Penner, D. S. Reid, S. J. Schwartz, C. F. Shoemaker, P. Sporns (Eds.), *Current Protocols in Food Analytic Chemistry*. New York: Wiley. pp. F1.2.1-F1.2.13.
12. Klein, B. P., & Perry, A. K. 1982. *Ascorbic acid and vitamin A activity in selected vegetables from different geographical areas of the United States*. *Journal of Food Science*. pp 47, 941-945, 948.
13. Martínez-Valverde I., Periago M.J., Ros G. 2000. Significado Nutricional de los Compuestos Fenólicos de la Dieta. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. Pág. 50, 5-18.
14. Monteros, C; Yumisaca, F; Andrade – Piedra; Reinoso, I, 2010, Cultivo de Papas Nativas Sierra Centro Norte del Ecuador, Publicación Miscelánea N° 179 , pg. 26 Quito - Ecuador

15. Mujica, A., M. Berti, J. Izquierdo. 1997. El cultivo del amaranto (*Amaranthus* spp), producción, mejoramiento genético y utilización. Oficina Regional de FAO. UNA, Puno, Concepcion, Chillán. Roma, Italia, 145 p.
16. Nadal, S., Moreno, M. y Cubero, J., 2004. "Las leguminosas grano en la agricultura moderna", Editorial Mundi Prensa, Madrid, España, pp. 151-179
17. Oyaizu, M. 1986. *Studies on products of the browning reaction: Antioxidative activities of browning reaction products prepared from glucosamine*. Japanese Journal of Nutrition. pp 44, 307-315.
18. Pantanelli, A 2000. Prometedora resurrección del amaranto "Los Mayas ya lo sabían". Alimentos Argentinos. (Argentina). Edición N° 18
19. Papanikolaou, Y; Fulgoni, I, 2007. *Journal of the American College of Nutrition, in press.* (Noticias de nuevas investigaciones reportadas en publicaciones medicas y de nutrición) publicación del Us Dry Bean Council y el comité de promoción.
20. Peralta, E; Villacrés, E; Mazón, O; Rivera, M; Cristian, S: 2008, El Ataco, Sangorache o Amaranto negro (*Amaranthus hybridus* L.) en el Ecuador, Publicación Miscelánea N° 143, Quito – Ecuador.
21. Peralta, E; Murillo A; Mazón, O; Pinzon, J: 2011, INIAP 482 AFROANDINO, Nueva Variedad de Fréjo, Arbustivo de Grano Negro. Boletín Divulgativo N° 393, Quito – Ecuador.
22. Quettier-Deleu, C., Gressier, B., Vasseur, J., Dine, T., Brunet, C., Luyckx, M., et al. 2000. *Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (Fagopyrum esculentum Moench) hulls and flour*. Journal of Ethnopharmacology. pp 72, 35-42.
23. Rafter JJ. 2002. *Scientific Basis of Biomarkers and Benefits of Functional Foods for Reduction of Disease Risk: Cancer*. British Journal of Nutrition. pp 88, 219S-224S.
24. Roberfroid MB. 2002. *Global View on Functional Foods: European Perspectives*. British Journal of Nutrition. pp 88, 133S-138S.
25. Rodríguez, Amaya, Mieko Kimura, 2004. Harvestplus, Handbook for carotenoid analysis. Harvest Plus Technical Monograph 2. Washington, DC and Cali. International Food Policy Research Institute (IFPRI) and International Center for Tropical Agriculture (CIAT). Procedures for nutrient analysis in potato and sweet potato. Nutrition and Quality Laboratory – CIP.
26. Rafter JJ. 2002. *Scientific Basis of Biomarkers and Benefits of Functional Foods for Reduction of Disease Risk: Cancer*. British Journal of Nutrition. pp 88, 219S-224S.
27. Roberfroid MB. 2002. *Global View on Functional Foods: European Perspectives*. British Journal of Nutrition. pp 88, 133S-138S.
28. Shahidi F., y Naczk M. 1995. *Food Phenolics: Sources, Chemistry, Effects and Applications*. Technomic Publishing., Inc. pp 247-260.
29. Serrano, L., 2004, "Análisis del caso frijol", <http://www.agrochiapas.gob.mx/tmp/SP/- Frijol. Pdf>, (Mayo, 2010)
30. Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K., Nakamura, T. 1992. *Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. pp 40, 945-948.
31. Shree, P. 1999. ("Common Bean Improvement in the Twenty-first Century" Kluwer Academic Publishers, Volumen 7. Netherlands.
32. Taga, M. S., Miller, E. E., Pratt, D. E. 1984. *Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants*. Journal of American Oil Chem Society. pp 61, 928-931.

33. Timothy, D. 1996. Razas de maíz en el Ecuador, Boletín técnico N° 12 Bogotá. (Instituto Colombiano Agropecuario)
34. Vaca Paredes Darío Alejandro. 2008. Desarrollo de un producto alimenticio listo para el consumo, en base a quinua fermentada. Ingeniero Agroindustrial. Quito-Ecuador. Escuela Politécnica Nacional. Anexo 2.
35. Villacis, D; Villacrés, E; Peralta, E; Izurueta, B. 2011, Evaluacion de la aptitud de doce genotipos de frejol Arbustivo (*Phaseolus vulgaris. L.*) para el proceso de enlatado, Repositorio EPN, Quito - Ecuador.
36. Villacrés, E; Quilca, N; Reinoso, I; Monteros, C; Muñoz, R. 2001, Valorización nutricional y funcional de las papas nativas (*Solanum andigena ssp*), 4<sup>to</sup> Congreso Ecuatoriano de la papa, Andrade – Piedra, J., Reinoso, I., Ayala, S. (eds) pg 35, Guaranda- Ecuador.
37. Wrolstad, R. E. 2000. Anthocyanins. In F. J. Francis, G. J. Lauro (Eds.). Natural Food Colorants. New York: Marcel Dekker. Cap 11. pp 237-252.