

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA  
LA MOLINA**

**FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**



**“EFECTO DEL TIEMPO DE COCCIÓN TRADICIONAL EN  
LA COMPOSICIÓN FÍSICO-QUÍMICA Y NUTRICIONAL DE  
SEMILLAS DE PAJURO (*Erythrina edulis*)”**

**TESIS PARA OPTAR TÍTULO DE  
INGENIERA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**JACKELINE JULEMY VALQUI CAMA**

**LIMA – PERÚ**

**2023**

---

**La UNALM es titular de los derechos patrimoniales de la presente investigación  
(Art. 24 - Reglamento de Propiedad Intelectual)**

## Document Information

---

<b>Analyzed document</b>	1-Documento de tesis - Jackeline Valqui Cama.docx (D148007976)
<b>Submitted</b>	10/29/2022 12:35:00 AM
<b>Submitted by</b>	Ritva Repo
<b>Submitter email</b>	ritva@lamolina.edu.pe
<b>Similarity</b>	3%
<b>Analysis address</b>	ritva.unalm@analysis.arkund.com

## Sources included in the report

---

<b>SA</b>	<b>Universidad Nacional Agraria La Molina / Tesis_Leslie Cumpa Arias.pdf</b> Document Tesis_Leslie Cumpa Arias.pdf (D142861035) Submitted by: gpuma@lamolina.edu.pe Receiver: gpuma.unalm@analysis.arkund.com		<b>7</b>
<b>SA</b>	<b>TESIS CORREGIDO.pdf</b> Document TESIS CORREGIDO.pdf (D121313483)		<b>1</b>
<b>SA</b>	<b>TT_ Yorky Coronel _ Urkund.docx</b> Document TT_ Yorky Coronel _ Urkund.docx (D112305273)		<b>1</b>
<b>SA</b>	<b>TESIS .CALLE - HOLGUIN ESTUDIO BIBLIOGRÀFICO FARMACOGNÒSTICO Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL FRUTO TUNA (Opuntia ficus indica).docx</b> Document TESIS .CALLE - HOLGUIN ESTUDIO BIBLIOGRÀFICO FARMACOGNÒSTICO Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL FRUTO TUNA (Opuntia ficus indica).docx (D130611504)		<b>1</b>
<b>SA</b>	<b>TESIS Ing Virginia para Antiplagio.docx</b> Document TESIS Ing Virginia para Antiplagio.docx (D134416646)		<b>15</b>

## Entire Document

---

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA  
FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS  
EFECTO DEL TIEMPO DE COCCIÓN TRADICIONAL EN EL CONTENIDO DE NUTRIENTES, DIGESTIBILIDAD,  
COMPUESTOS FENÓLICOS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE SEMILLAS DE PAJURO (*Erythrina edulis*)

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA  
LA MOLINA**

**FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**“EFECTO DEL TIEMPO DE COCCIÓN TRADICIONAL EN LA  
COMPOSICIÓN FÍSICO-QUÍMICA Y NUTRICIONAL DE  
SEMILLAS DE PAJURO (*Erythrina edulis*)”**

Presentado por:

JACKELINE JULEMY VALQUI CAMA

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
INGENIERA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

Sustentado y aprobado ante el siguiente jurado:

---

Dr. David Campos Gutiérrez  
PRESIDENTE

---

Patricia Glorio Paulet, PhD.  
MIEMBRO

---

Mg.Sc. Carlos Elías Peñafiel  
MIEMBRO

---

Ritva A. Repo de Carrasco, PhD.  
ASESORA

---

Mg.Sc. Víctor Delgado Soriano  
CO-ASESOR

Lima – Perú

2023

## **DEDICATORIA**

*A mi familia. Principalmente a Oscar, mi papá, la persona más importante en mi vida, gracias por tu apoyo incondicional y enseñarme con el ejemplo los valores que ahora me guían; también, lo dedico a la memoria de mi amada mamá, Yulemy, y tías, Nelly Cama y Juana Valqui; sus recuerdos me acompañarán para siempre.*

## **AGRADECIMIENTO**

A mi asesora, la Dra. Ritva Repo de Carrasco, por su apoyo durante la elaboración de esta tesis.

A mi co-asesor, el Mg. Sc. Víctor Delgado Soriano, por su comprensión y aliento, por su invaluable apoyo en la ejecución de la tesis y por su amistad.

A los miembros del jurado por sus valiosos aportes y sugerencias en la mejora de esta investigación.

A Sonia Quiroz y a la Dra. Paola Cortés, por su gran disposición para ayudar en todo momento y por hacer de esos días un valioso recuerdo.

Al PhD. Jukka-Pekka Suomela por las facilidades para realizar algunos análisis.

A los técnicos de los laboratorios de la Facultad de Industrias Alimentarias; Zahara Prudencio, Maribel Gonzales, Juan Maihuire, Erick Contreras y Don Máximo Zúñiga† por el apoyo brindado en las fases de la parte experimental.

A todas las personas que conocí en los laboratorios por la amistad y ayuda brindada en algún momento.

Al Vicerrectorado de Investigación por el financiamiento de esta investigación, bajo el marco del 8° Concurso para subvención de tesis de pregrado UNALM.

# ÍNDICE GENERAL

## RESUMEN

## ABSTRACT

<b>I.</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>II.</b>	<b>REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	<b>3</b>
2.1.	PLANTA DE PAJURO .....	3
2.1.1.	CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA Y DESCRIPCIÓN BOTÁNICA.....	3
2.1.2.	ORIGEN Y DENOMINACIÓN .....	5
2.1.3.	ETNOBOTÁNICA DE LA PLANTA DE PAJURO.....	6
2.2.	VALOR NUTRICIONAL Y FACTORES ANTINUTRICIONALES DE LA SEMILLA DE PAJURO.....	8
2.3.	COCCIÓN TRADICIONAL .....	10
2.4.	CALIDAD DE COCCIÓN DE LEGUMINOSAS.....	11
2.4.1.	MÉTODOS DIRECTOS PARA DETERMINAR LA CALIDAD DE COCCIÓN	13
2.4.2.	MÉTODOS INDIRECTOS PARA DETERMINAR LA CALIDAD DE COCCIÓN .....	15
2.5.	ANÁLISIS FÍSICO Y QUÍMICO EN LEGUMINOSAS.....	17
2.5.1.	DESCRIPTORES MORFOLÓGICOS .....	17
2.5.2.	ALMIDON TOTAL .....	17
2.5.3.	DIGESTIBILIDAD DEL ALMIDÓN <i>IN VITRO</i> E ÍNDICE GLUCÉMICO.....	18
2.5.4.	DIGESTIBILIDAD DE LA PROTEÍNA <i>IN VITRO</i> .....	21
2.5.5.	INHIBIDORES DE TRIPSINA.....	22
2.5.6.	COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES .....	23
2.5.7.	CAPACIDAD ANTIOXIDANTE .....	24
<b>III.</b>	<b>METODOLOGÍA</b> .....	<b>27</b>
3.1.	LUGAR DE EJECUCIÓN.....	27
3.2.	MUESTRA DE ESTUDIO .....	27
3.3.	MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS .....	28

3.3.1. MATERIALES .....	28
3.3.2. EQUIPOS E INSTRUMENTOS.....	28
3.3.3. REACTIVOS .....	29
3.4. MÉTODOS DE ANÁLISIS.....	30
3.4.1. CARACTERIZACIÓN FÍSICA .....	30
3.4.2. ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL .....	32
3.4.3. CALIDAD DE COCCIÓN .....	33
3.4.4. DETERMINACIÓN DE ALMIDÓN TOTAL .....	34
3.4.5. DIGESTIBILIDAD DEL ALMIDÓN <i>IN VITRO</i> E ÍNDICE GLUCÉMICO.....	35
3.4.6. DIGESTIBILIDAD DE LA PROTEÍNA <i>IN VITRO</i> (DPIV).....	37
3.4.7. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DEL INHIBIDOR DE TRIPSINA (AIT).....	38
3.4.8. OBTENCIÓN DE EXTRACTOS FENÓLICOS.....	39
3.4.9. DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES (CFT).....	40
3.4.10. DETERMINACIÓN DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DPPH .....	40
3.4.11. DETERMINACIÓN DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE ABTS .....	40
3.5. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL .....	41
3.6. DISEÑO EXPERIMENTAL .....	43
3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	45
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>46</b>
4.1. CARACTERIZACIÓN FÍSICA DE LAS SEMILLAS DE PAJURO.....	46
4.1.1. FORMA, DIMENSIÓN Y PESO DE 100 SEMILLAS .....	47
4.1.2. COLOR DE TEGUMENTO Y COTILEDÓN .....	47
4.1.3. PORCENTAJE DE TEGUMENTO Y COTILEDÓN .....	48
4.1.4. HUMEDAD DE LA SEMILLA .....	48
4.2. CALIDAD DE COCCIÓN .....	49
4.3. CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE LAS SEMILLAS DE PAJURO .....	52
4.3.1. ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL Y ALMIDÓN TOTAL .....	52
4.3.2. DIGESTIBILIDAD DEL ALMIDÓN <i>IN VITRO</i> E ÍNDICE GLUCÉMICO.....	58
4.3.3. DIGESTIBILIDAD DE LA PROTEÍNA <i>IN VITRO</i> Y ACTIVIDAD DEL INHIBIDOR DE TRIPSINA .....	63

4.3.4.	COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE ..	66
<b>V.</b>	<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>69</b>
<b>VI.</b>	<b>RECOMENDACIONES .....</b>	<b>70</b>
<b>VII.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>71</b>
<b>VIII.</b>	<b>ANEXOS .....</b>	<b>87</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Ubicación y nombre vernacular de la especie <i>Erythrina edulis</i> .....	7
Tabla 2: Composición química de la semilla de pajuro sin cáscara, en base seca .....	9
Tabla 3: Marcha fitoquímica de metabolitos secundarios de la semilla de pajuro .....	12
Tabla 4: Clasificación que relaciona punto de cocción con textura táctil de legumbres cocidas .....	14
Tabla 5: Tiempos de cocción de nueve muestras de legumbres.....	15
Tabla 6: Descriptores morfológicos para <i>Phaseolus vulgaris</i> .....	17
Tabla 7: Diseño experimental para caracterización de semillas de pajuro .....	44
Tabla 8: Características físicas de la semilla de pajuro cruda.....	46
Tabla 9: Características de la calidad de cocción de la semilla de pajuro .....	49
Tabla 10: Matriz de correlación entre las características de calidad de cocción y las características químicas de las semillas de pajuro cocidas .....	53
Tabla 11: Composición química de la semilla de pajuro en base seca .....	54
Tabla 12: Parámetros para evaluar el ajuste del modelo en base a la cinética de primer orden .....	61
Tabla 13: Índices de digestibilidad del almidón calculados a partir de las curvas de primer orden .....	61
Tabla 14: Digestibilidad de la proteína <i>in vitro</i> y actividad del inhibidor de tripsina en base seca .....	64
Tabla 15: Compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante de la semilla de pajuro en base seca.....	67

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: a) Árbol de pajuro. b) Flores de pajuro. c) Vainas de pajuro. d) Semillas de pajuro .....	4
Figura 2: a) Ocurrencias reportadas de uso de pajuro del 2017 – 2022. b) Reporte de las ocurrencias por país del 2017 – 2022 .....	5
Figura 3: a) Separación de las semillas de sus vainas. b) Semillas de pajuro cocidas listas para consumo .....	8
Figura 4: Reacción enzimática del almidón con amiloglucosidasa-hexoquinasa-glucosa 6-fosfato deshidrogenasa.....	18
Figura 5: Efecto del procesamiento en las propiedades microestructurales de las legumbres y su posterior digestibilidad de macronutrientes (almidón).....	20
Figura 6: Reacción de hidrólisis enzimática del almidón por $\alpha$ -amilasa .....	20
Figura 7: Relación de la digestión del almidón <i>in vitro</i> con el índice glucémico .....	21
Figura 8: Mecanismo de transferencia de átomos de hidrógeno (HAT) y transferencia de un solo electrón (SET).....	25
Figura 9: Lugar de procedencia de las semillas de pajuro .....	27
Figura 10: Clasificación de las formas para <i>Phaseolus vulgaris</i> : (1) Redonda, (2) Oval, (3) Cuboide, (4) Reniforme, (5) Alargada truncada .....	31
Figura 11: Dimensiones consideradas en las semillas de pajuro.....	31
Figura 12: Puntos de medición del color de las semillas .....	32
Figura 13: Flujo de operaciones para la obtención de harina de semillas de pajuro crudo y cocido.....	42
Figura 14: Modelo lineal de correlación entre pérdida de sólidos hacia el agua de cocción y tiempo de cocción.....	50
Figura 15: Modelo lineal de correlación entre conductividad del agua de cocción y tiempo de cocción .....	51
Figura 16: Modelo polinomial de correlación entre firmeza y tiempo de cocción.....	52
Figura 17: Modelo polinomial de correlación entre carbohidratos y tiempo de cocción ....	56

Figura 18: a) Modelo polinomial de correlación entre ceniza y tiempo de cocción. b) Modelo polinomial de correlación entre ceniza y pérdida de sólidos .....	57
Figura 19: Curvas de cinética de hidrólisis del almidón <i>in vitro</i> de semillas de pajuro .....	59
Figura 20: Logaritmo de la pendiente (LOS) para semillas de pajuro.....	60
Figura 21: Modelo polinomial de correlación entre la digestibilidad de la proteína <i>in vitro</i> y el tiempo de cocción.....	64
Figura 22: Modelo polinomial de correlación entre los carbohidratos y el tiempo de cocción .....	65

## ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1: OPERACIONES UNITARIAS PARA LA OBTENCIÓN DE LAS HARINAS DE SEMILLAS DE PAJURO.....	87
ANEXO 2: ESPECIFICACIONES TÉCNICAS DE LA COCINA ELÉCTRICA USADA PARA COCCIÓN DE LOS TRATAMIENTOS.....	88
ANEXO 3: PÉRDIDA DE SÓLIDOS EN AGUA DE COCCIÓN DE SEMILLAS DE PAJURO.....	88
ANEXO 4: COTILEDÓN DE SEMILLA DE PAJURO COCIDA EN POSICIÓN TRANSVERSAL A LA CELDA DE CORTE MINIKRAMER .....	89
ANEXO 5. PROTOCOLO DE ENSAYO KIT DE ENSAYO DE ALMIDÓN SA20 .....	89
ANEXO 6: PROCEDIMIENTO PARA MÉTODO DNS .....	90
ANEXO 7: CURVA ESTÁNDAR DE MALTOSA PARA ENSAYO DE DIGESTIBILIDAD DEL ALMIDÓN <i>IN VITRO</i> .....	91
ANEXO 8: CURVA ESTÁNDAR DE ÁCIDO GÁLICO PARA ENSAYO DE CFT .....	91
ANEXO 9: CURVA ESTÁNDAR DE TROLOX PARA EL ENSAYO DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DPPH .....	92
ANEXO 10: CURVA ESTÁNDAR DE TROLOX PARA EL ENSAYO DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE ABTS .....	92
ANEXO 11: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE PÉRDIDA DE SÓLIDOS.....	93
ANEXO 12: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE CONDUCTIVIDAD DEL AGUA DE COCCIÓN.....	94
ANEXO 13: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE FIRMEZA.....	95
ANEXO 14: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE ENERGÍA.....	96
ANEXO 15. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE CARBOHIDRATOS .....	97
ANEXO 16: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE PROTEÍNA CRUDA .....	98
ANEXO 17: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE EXTRACTO ETÉREO .....	99
ANEXO 18: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE FIBRA CRUDA.....	100

ANEXO 19: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE CENIZA.....	101
ANEXO 20: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE ALMIDÓN TOTAL.....	102
ANEXO 21: ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA ACTIVIDAD DEL INHIBIDOR DE TRIPSINA.....	103
ANEXO 22: ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA DIGESTIBILIDAD DE LA PROTEÍNA <i>IN VITRO</i> .....	104
ANEXO 23: ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES .....	105
ANEXO 24: ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DPPH .....	106
ANEXO 25: ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE ABTS .....	107

## RESUMEN

La semilla de pajuro (*Erythrina edulis*) es una leguminosa nativa subutilizada consumida como hortaliza y podría ser potencial fuente de nutrientes de calidad. En el marco de esta investigación se realizó una caracterización física a las semillas de pajuro crudas, determinándose que las semillas analizadas destacan por su gran tamaño y peso en comparación a otras legumbres, presentaron forma reniforme, son de color marrón rojizo oscuro y por su humedad se pudieron clasificar como semillas frescas. Luego se sometieron a cocción tradicional para evaluar el efecto de cuatro tiempos de cocción (20, 25, 30 y 35 minutos) en la composición química de las semillas crudas y cocidas. Se determinó que a 25 minutos se obtuvieron los mejores resultados, a este tiempo se redujo significativamente el contenido de ceniza de 6.23 a 5.77 %, el contenido de almidón de 40.61 a 31.91 %, la actividad del inhibidor de tripsina de 52.25 a 2.72 mg TI/g, los compuestos fenólicos totales de 1.61 a 1.22 mg EAG/g, la capacidad antioxidante por DPPH de 37.99 a 32.39  $\mu\text{mol ET/g}$  y por ABTS de 201.09 a 140.42  $\mu\text{mol ET/g}$ , pero aumentaron significativamente el contenido de carbohidratos de 72.20 a 73.04, la digestibilidad de la proteína *in vitro* de 75.82 a 79.25 % y se obtuvo el menor índice glucémico predicho (88.41). El tiempo de cocción no tuvo efecto en el contenido de proteína y grasa. Los hallazgos de esta investigación serán importantes para evaluar el efecto del tiempo de cocción que garantice la conservación de nutrientes, reducción de antinutrientes, digestibilidad modulada y buena capacidad antioxidante de las semillas de pajuro.

**Palabras claves:** Leguminosa hortaliza, calidad de cocción, textura, pérdida de sólidos, digestibilidad, correlación.

## ***ABSTRACT***

Pajuro seed (*Erythrina edulis*) is an underutilized native legume consumed as a vegetable and could be a potential source of quality nutrients. Within the framework of this research, a physical characterization of raw pajuro seeds was carried out, determining that the seeds analyzed stand out for their large size and weight in comparison to other legumes, had a reniform shape, were dark reddish brown in color and could be classified as fresh seeds due to their humidity. They were then subjected to traditional cooking to evaluate the effect of four cooking times (20, 25, 30 and 35 minutes) on the chemical composition of the raw and cooked seeds. It was determined that at 25 minutes the best results were obtained, at this time the ash content was significantly reduced from 6.23 to 5.77 %, starch content from 40.61 to 31.91 %, the trypsin inhibitor activity from 52.25 to 2.72 mg TI/g, total phenolic compounds from 1.61 to 1.22 mg AGE/g, antioxidant capacity by DPPH from 37.99 to 32.39  $\mu\text{mol TE/g}$  and by ABTS from 201.09 to 140.42  $\mu\text{mol TE/g}$ , but significantly increased carbohydrate content from 72.20 to 73.04, *in vitro* protein digestibility from 75.82 to 79.25 % and obtained the lowest predicted glycemic index (88.41). Cooking time had no effect on protein and fat content. The findings of this research will be important to evaluate the effect of cooking time to ensure nutrient conservation, anti-nutrient reduction, modulated digestibility and good antioxidant capacity of pajuro seeds.

**Keywords:** Legume vegetable, cooking quality, texture, solids loss, digestibility, correlation.

## I. INTRODUCCIÓN

La mayoría de las leguminosas cultivadas se consumen como semillas secas, también llamadas legumbres o legumbres en grano; sin embargo, cuando las semillas se encuentran frescas se las conoce como leguminosas hortalizas, entre las más consumidas se tienen a la arveja verde, judía verde, haba, caupí, frijol de yarda y frijol verde (FAO/OMS, 1993; McCrory *et al.*, 2010; Ntatsi *et al.*, 2018). Las leguminosas hortalizas contienen más agua, menos proteínas, más carbohidratos solubles y menor contenido de almidón lo que las hace más apetecibles que las legumbres. En consecuencia, su consumo está destinado a proporcionar una nutrición equilibrada más que a servir como fuente de proteínas (Ntatsi *et al.*, 2018). Al ofrecerse como alimento fresco tienen una vida útil limitada y se pueden preparar más rápido que las legumbres secas adaptándose a los hábitos de consumo modernos. Por ello sus características de calidad son diferentes de las utilizadas para evaluar las legumbres (Bhattacharya & Malleshi, 2012; Ntatsi *et al.*, 2018).

Las leguminosas subutilizadas y menos conocidas poseen atributos nutricionales basados en el conocimiento tradicional de los habitantes locales (Sridhar & Sharma, 2021). Se entiende por subutilizados a «aquellos cultivos no-comerciales que son parte de un portafolio de biodiversidad, anteriormente más popular y que hoy en día no son apreciados por los productores y los consumidores» (Padulosi & Hoeschle-Zeledon, 2004). Según Pastor *et al.* (2006), el pajuro es una de las leguminosas subutilizadas debido a que presentan una producción inferior al 10 % del cultivo nativo más importante respecto al área sembrada, no están presentes en las exportaciones nacionales y su presencia no es regular en los supermercados de la capital; sin embargo, tienen potencial para contribuir a la seguridad alimentaria y a la economía de la agricultura familiar campesina (FAO, 2018). Pajuro, chachafruto, balú, poroto, son algunos de los nombres que recibe la especie *Erythrina edulis* (Acero, 2002; Escamilo, 2015), leguminosa hortaliza subutilizada que se produce para alimentación humana, animal y hasta para la recuperación de suelos degradados, pero solo es consumida por los pobladores ubicados en los sectores rurales principalmente de Perú,

Colombia y Ecuador (Escamilo, 2015; GBIF.Org, 2022; Pastor *et al.*, 2006).

En la literatura se encuentra información respecto al contenido de proteína y carbohidratos (Barrera & Mejía, 1998; Delgado-Soriano *et al.*, 2022; Escamilo, 2015; Pérez *et al.*, 1979; Vargas, 2016; Villafuerte *et al.*, 2021). Asimismo, sobre las propiedades funcionales de semillas sometidas a cocción-extrusión (Delgado-Soriano *et al.*, 2020), digestibilidad *in vivo* de semillas cocidas tradicionalmente (Delgado-Soriano *et al.*, 2022), caracterización de péptidos antioxidantes (Guerra-Almonacid *et al.*, 2019; Intiquilla *et al.*, 2016, 2019; Palma-Albino *et al.*, 2021); así como su uso en aplicaciones de películas comestibles de almidón de pajuro (Sandoval *et al.*, 2021), bebidas proteicas (Espinoza, 2018), productos de panificación (Vargas, 2016; Vilcanqui-Pérez *et al.*, 2022) y extractos proteicos (Arango *et al.*, 2012).

No obstante, pocos trabajos se ocupan del estudio de leguminosas hortalizas subutilizadas, como las semillas de pajuro, consumidas habitualmente tras la cocción tradicional en comparación con las que abordan el estudio de legumbres secas; asimismo, se desconoce algunas características físicas, la relación entre los parámetros de calidad de cocción y características químicas con el tiempo de cocción de esta semilla. Por lo expuesto, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto del tiempo de cocción tradicional sobre la composición química de las semillas de pajuro; primero se realizó una caracterización física de las semillas enteras y química de la harina obtenida a partir de las semillas de pajuro crudas, luego se analizó las características de calidad de cocción y se realizó la caracterización química de las harinas obtenidas de las semillas cocidas en cuatro tiempos.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. PLANTA DE PAJURO

#### 2.1.1. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA Y DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

El género de *Erythrina* comprende alrededor de 112 especies que se distribuyen en todas las regiones tropicales y subtropicales del mundo (Araujo, 2005); su origen griego proviene de la palabra *erythros* en referencia al color rojo característico de sus flores (Escamilo, 2015; Velásquez *et al.*, 2019). *Erythrina edulis* es el nombre botánico que recibió la planta de pajuro y su clasificación taxonómica actual fue establecida por Krukoff y Barneby en 1974 de acuerdo a la base de datos del Instituto Jardín Botánico de Missouri (Trópicos, 2020); dicha clasificación se muestra a continuación:

Clase	: Equisetopsida C. Agardh
Subclase	: Magnoliidae Novák ex Takht.
Superorden	: Rosanae Takht.
Orden	: Fabales Bromhead
Familia	: Fabaceae Lindl.
Género	: <i>Erythrina L.</i>
Especie	: <i>Erythrina edulis</i>

El pajuro es un árbol frondoso de altura promedio entre 10 a 15 metros, su tronco posee algunas espinas que parecen púas por lo cual es de fácil reconocimiento, de igual forma sus hojas poseen pequeñas espinas (Figura 1.a); sus flores son de color rojo carmesí, que se convierten en un racimo de vainas alargadas color verde claro en donde se encuentran las semillas (Figura 1.b) (Escamilo, 2015). Cada vaina llega a medir entre 35 y 40 cm, con un ancho de 4 a 6 cm dependiendo de la zona donde se cultive, además podría llegar a contener

hasta 10 semillas (Figura 1.c). Las semillas son de forma similar a un frejol verde, pero mucho más grande, y en la madurez su cáscara se torna de consistencia gruesa y de color marrón oscuro brillante la cual es necesario pelar para su consumo (Figura 1.d) (Acero, 2002; Escamilo, 2015).



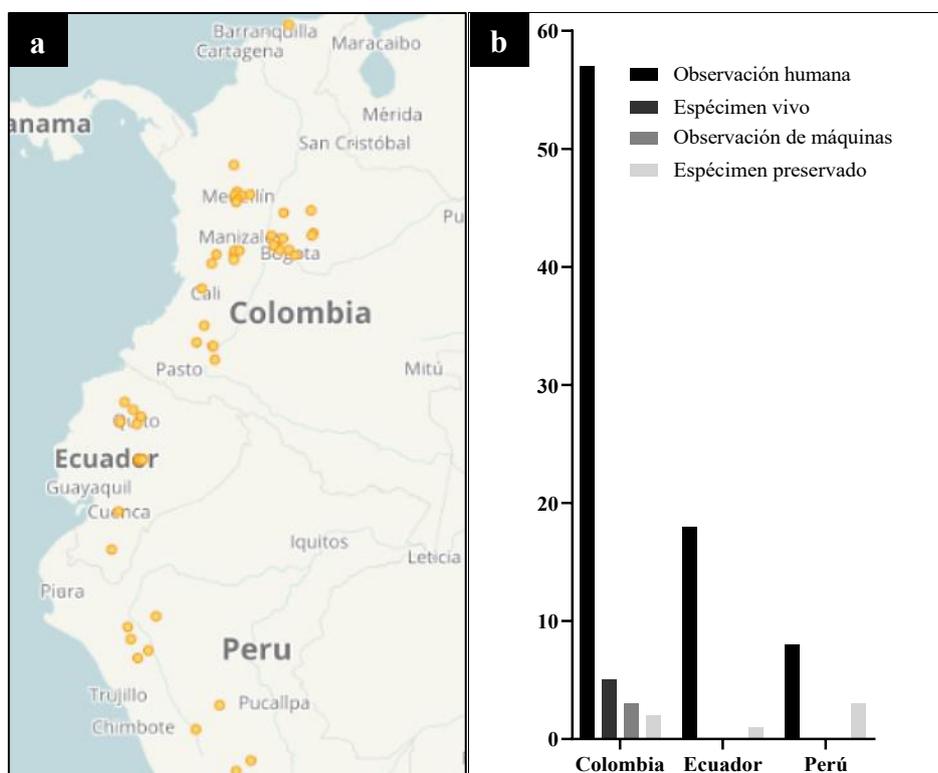
**Figura 1: a) Árbol de pajuro. b) Flores de pajuro. c) Vainas de pajuro. d) Semillas de pajuro**

FUENTE: Adaptado de Trópicos (2020)

## 2.1.2. ORIGEN Y DENOMINACIÓN

El pajuro es oriundo de la región andina, se cultivaba en la cordillera de los Andes y era aprovechado por los incas, su distribución geográfica iba desde Venezuela, hasta Bolivia pasando por Colombia, Panamá, Ecuador y Perú (Barrera & Mejía, 1998; Escamilo, 2015). En Perú también se cultivaba en la ceja de selva, los valles interandinos bañados por los ríos Vilcanota, Huallaga, Marañón, Condebamba, Huancabamba y en las entradas de valles costeros de la región norte del país (Escamilo, 2015).

Según la base de datos de *Global Biodiversity Information Facility* (GBIF), en los últimos cinco años solo se dispone de información referente a ocurrencias reportadas sobre el uso del pajuro principalmente en Colombia, Ecuador y Perú (Figura 2) (GBIF.Org, 2022). Así, actualmente en Perú se cultiva entre los 500 y 3400 m.s.n.m., siendo la altura para la mejor producción entre los 2300 y 2800 m.s.n.m., sobre todo en la sierra norte de Piura, Amazonas, Cajamarca, La Libertad, Áncash y Huánuco (Escamilo, 2015).



**Figura 2: a) Ocurrencias reportadas de uso de pajuro del 2017 – 2022. b) Reporte de las ocurrencias por país del 2017 – 2022**

FUENTE: Adaptado de GBIF.Org (2022)

Por otro lado, de acuerdo al lugar de procedencia, el nombre vernáculo de la especie *E. edulis* varía como se muestra en la Tabla 1, siendo el nombre más usado el de “pajuro” para denominar al frejol de palo en el departamento de Cajamarca (Escamilo, 2015).

### **2.1.3. ETNOBOTÁNICA DE LA PLANTA DE PAJURO**

La planta de pajuro es utilizada por los pobladores para formar cercas vivas y para evitar la erosión de los suelos a orillas de ríos y quebradas, también se utiliza como árbol de sombra en cafetales y cacaoales, y como soporte de especies trepadoras como la granadilla, además es una de las leguminosas que mejor fija el nitrógeno, mejorando la recuperación de los suelos degradados. Asimismo, sus hojas, flores y raíces son empleadas con fines medicinales para tratar cicatrices, dificultad para orinar, dolor de cabeza y estómago, dolencias cardíacas, infecciones bucales, etc. Por otra parte, el tegumento de la semilla brinda una pigmentación morada con propiedades colorantes que es utilizado por las tejedoras para teñir hilos de mantas; otro aspecto, es su uso con fines ornamentales por poseer numerosas flores color rojo carmín (Acero, 2002; Araujo, 2005; Escamilo, 2015).

Entre su diversidad de usos se emplea como alimento humano, donde el fruto completo (vainas y semillas) se puede consumir cuando aún es pequeño y no ha madurado mucho. No obstante, cuando las semillas están maduras se consumen bien cocidas y sin cáscara debido a que es poco digerible, esta práctica era común en las casas de los agricultores y en las chicherías (Figura 3). En la actualidad su consumo ha disminuido debido a que la siembra de la planta cada vez es menor (Acero, 2002; Escamilo, 2015; Velásquez *et al.*, 2019).

Respecto a su uso para alimentación animal, las hojas, cáscaras del fruto y semillas del pajuro son un excelente forraje debido a un mayor contenido proteico que los pastos, pero lo utilizan ocasional y complementariamente. En el caso de rumiantes lo pueden consumir crudo; por el contrario, para pollos, cerdos, peces y conejos es necesario cocerlo (Acero, 2002).

**Tabla 1: Ubicación y nombre vernacular de la especie *Erythrina edulis***

PAÍS	Departamento	Provincia	Elevación (msnm) <sup>4</sup>	Nombre vernáculo
Perú <sup>1</sup>	Amazonas	Bongará, Chachapoyas y Luya	1420–2663	Lope
	Áncash	Pomabamba, Huaráz y Huari	3000	Pashul, pashullo, pajul y bashul, chimpi
	Cajamarca	Contumazá, Cutervo, Jaén, San Ignacio, San Miguel, San Marcos, y Chota	1100–2500	Pajuro
	Cusco	Anta, Paucartambo, Urubamba	2080–3200	Frejol del inca
	Huánuco	Huáncó, Leoncio Prado, Pachitea	1362–2000	-
	Junín	Chanchamayo, Satipo,	1346–1900	-
	Ucayali <sup>2</sup>	-	1200–3000	-
	La Libertad	Bolívar, Huari, Huaraz y Pomabamba	3212	Pashullo, pajul, poroto y bashul
	Lambayeque	Lambayeque	1730	-
	Pasco	Oxapampa,	1500–3000	-
Piura	Morropón, Frías y Huancabamba	2000–2300	Poroto	
	San Martín	Huallaga	1583–2000	-
Colombia <sup>3</sup>	-	-	1400–2400	Chachafruto, balú, baluy, chaporuto, frijol pompás poroto, sachaf fruto y sachaporoto
Venezuela <sup>3</sup>	-	-	-	Frijol pompás, balú, bucaré y chachafruto
Ecuador <sup>3</sup>	-	-	-	Guato, sachaporoto, zapote de cerro, frijol de monte, Pashullo, poroto y porotón
Bolivia <sup>3</sup>	-	-	-	Sachahabas

FUENTE: Adaptado de <sup>1</sup>Escamilo (2015); <sup>2</sup>Araujo (2005); <sup>3</sup>Acero (2002); <sup>4</sup>Trópicos (2020).



**Figura 3: a) Separación de las semillas de sus vainas. b) Semillas de pajuro cocidas listas para consumo**

FUENTE: Adaptado de Escamilo (2015)

Por otro lado, por ser una planta que no exige ningún cuidado, puede llegar a vivir más de 200 años y continuar produciendo (Escamilo, 2015); también existe la leyenda que su consumo regular otorgaba longevidad, así en Colombia existen comunidades nativas cuyos pobladores que consumieron pajuro tuvieron un promedio de vida superior a los 90 años (Acero, 2002).

## **2.2. VALOR NUTRICIONAL Y FACTORES ANTINUTRICIONALES DE LA SEMILLA DE PAJURO**

Esta semilla es conocida por su potencial nutritivo como fuente importante de proteína vegetal y carbohidratos; dichos valores correspondientes a la semilla sin cáscara cruda o cocida fueron reportados en algunas investigaciones (Tabla 2). De los valores de proteína cruda presentados por la literatura se puede declarar a las semillas de pajuro como producto con contenido “alto en proteína”, pues la contribución de la proteína a la energía total supera el 20 %, valor establecido bajo la regulación de la Unión Europea, llegando a aportar hasta el 27 % de la energía total (Parlamento Europeo, Reglamento (CE) N° 1924/2006, Relativo a Las Declaraciones de Propiedades Nutricionales y Saludables de Los Alimentos, Anexo 17, 2006).

**Tabla 2: Composición química de la semilla de pajuro sin cáscara, en base seca**

<b>Tratamiento</b>	<b>Energía<sup>1</sup> (kcal)</b>	<b>Proteínas<sup>2</sup> (%)</b>	<b>Extracto etéreo (%)</b>	<b>Fibra (%)</b>	<b>Cenizas (%)</b>	<b>Carbohidratos<sup>3</sup> (%)</b>	<b>FUENTE</b>
Crudo	383.06	21.10	0.54	2.86	4.91	73.45	Delgado-Soriano <i>et al.</i> (2022)
Crudo	394.70	26.19	1.02	4.68	2.60	70.19	Villafuerte <i>et al.</i> (2021)
Crudo	379.99	20.51	0.51	5.13	5.64	73.34	Brack (2003) citado por Escamilo (2015)
Crudo	379.99	20.50	0.51	5.13	5.64	73.35	Barrera & Mejía (1998)
Crudo	380.20	18.00	0.60	7.50	5.70	75.70	Pérez <i>et al.</i> (1979)
Cocción tradicional	384.31	20.58	0.47	2.83	4.51	74.44	Delgado-Soriano <i>et al.</i> (2022)
Cocción tradicional	396.00	22.8	1.52	0.94	2.90	72.78	Vargas (2016)
Cocción-Extrusión	382.52	20.78	0.44	2.51	4.92	73.86	Delgado (2018)

<sup>1</sup> Valores calculados a partir de lo reportado por autores con los factores generales de Atwater (FAO, 2003).

<sup>2</sup> Nx6.25.

<sup>3</sup> Valores calculados como  $100 - (\% \text{ proteína} + \% \text{ extracto etéreo} + \% \text{ ceniza})$  en base seca.

Entre los factores antinutricionales presentes en la semilla de pajuro se tiene a los alcaloides, lecitinas, inhibidores de tripsina y quimotripsina (Barrera & Mejía, 1998). Como se observa en la Tabla 3, mediante una marcha fitoquímica en las semillas de pajuro se reportó la presencia de esteroides y terpenos, alcaloides insolubles en cloroformo y alcaloides cuaternarios. Respecto a los alcaloides insolubles en cloroformo éstos son los que están formados por alcaloides fenólicos neutros (Bergoñón, 1994). Mientras que los alcaloides cuaternarios son los que contienen un átomo de nitrógeno tetra sustituido (funcionalidad de amonio cuaternario), siendo por lo tanto sustancias iónicas; por lo anterior, estos son solubles en soluciones acuosas ácidas, básicas y neutras, ya que permanecen ionizadas en todo el rango de pH, siendo así insolubles en la mayoría de solventes orgánicos (Martínez, 2020).

Por otro lado, respecto a la actividad biológica de los alcaloides de las especies de *Erythrina*, estudios realizados desde la década de 1930 a finales del 2018 mostraron que existe una amplia variación en la potencia de la actividad paralizante de las semillas de diferentes especies. Tal es el caso de las semillas grandes y blandas de *E. edulis* que mostraron un bajo valor de potencia paralizante, lo cual fue respaldado por su gran historial de consumo, cocidas o fritas, de la gente en Colombia (Fahmy *et al.*, 2020).

### **2.3. COCCIÓN TRADICIONAL**

Por procedimiento tradicional de cocción se entiende a las técnicas que normalmente se utilizan en la gastronomía, en particular en la cocina colectiva. Estas técnicas no están estrictamente codificadas, sino que se derivan de hábitos antiguos. Generalmente se caracterizan por tratamientos térmicos intensos y de larga duración (Lobefaro *et al.*, 2021).

Durante la cocción tradicional se desarrollan modificaciones químicas, físicas y enzimáticas en los alimentos, las mismas que alteran la digestibilidad y la capacidad antioxidante de los fitoquímicos dietéticos (Zhao *et al.*, 2019). El principal propósito del procesamiento térmico en las legumbres es producir cambios físicos y químicos en la estructura de las semillas, que mejoren la bioaccesibilidad y biodisponibilidad de sus nutrientes, así como mejorar sus propiedades sensoriales. Sin embargo, el calentamiento también provoca variaciones sustanciales en los perfiles de compuestos bioactivos, ya que la mayoría de ellos se liberan en el medio de remojo o cocción, se degradan, precipitan o forman complejos con otras

moléculas presentes en las legumbres, lo que afecta la biodisponibilidad, la bioaccesibilidad y la bioactividad (Sánchez-Velázquez *et al.*, 2021). Asimismo, los antinutrientes se pueden eliminar durante la cocción y de esta forma evitar que afecten el uso de productos a base de leguminosas debido a que son tóxicos, desagradables al paladar y tienen la capacidad para bloquear nutrientes, inhibir el metabolismo o reducir la digestión (Y. Kumar *et al.*, 2022). Debido a ello, las condiciones de calentamiento (combinación tiempo-temperatura) son importantes para que aumente la biodisponibilidad de los nutrientes, pero sin provocar una degradación significativa (Mehta, 2015).

Otro aspecto que influye en las condiciones de cocción es el tamaño, forma y estructura de las diferentes especies de semillas. Cuando se cocina en un baño de agua hirviendo el tiempo de cocción de cada semilla es diferente, es decir, existirá un intervalo más o menos amplio de tiempo de cocción, además, el número de semillas cocidas aumenta con el tiempo (Ibarz *et al.*, 2004).

#### **2.4. CALIDAD DE COCCIÓN DE LEGUMINOSAS**

El tiempo de cocción requerido para que las leguminosas alcancen la textura aceptable para los consumidores, determina la calidad de cocción. El tiempo de cocción es el factor de mayor importancia en este proceso tecnológico y es representado por el tiempo desde el comienzo de ebullición del líquido de cocción hasta la cocción completa (Reyes-Moreno *et al.*, 1993). Otra forma de definir al tiempo de cocción es cuando los gránulos de almidón dentro de los cotiledones se gelatinizan completamente mediante un proceso hidrotérmico (Wood, 2017).

Determinar el tiempo de cocción es importante para la producción y consumo de leguminosas debido a que periodos largos requieren de mayor consumo de electricidad o combustible; algunas operaciones previas a la cocción pueden reducir dicho tiempo, entre ellas se practica el descascarillado de las semillas, división de los cotiledones y en su mayoría el remojo previo de las semillas enteras y secas (Bento *et al.*, 2021; Wood, 2017).

**Tabla 3: Marcha fitoquímica de metabolitos secundarios de la semilla de pajuro**

Parte de la planta	Flavonoides	Antraquinonas	Taninos y Saponinas	Esteroides y Terpenos	Alcaloides solubles en cloroformo	Alcaloides insolubles en cloroformo	Alcaloides cuaternarios	Alcaloides fenólicos
SEMILLAS	-	-	-	+	-	+	++	-
HOJAS	-	+++	+++	+	-	-	++	-

Criterios de análisis semicuantitativos

+++ Muy bueno

++ Abundante

+ Presente

- Ausente

FUENTE: Adaptado de Domínguez, citado por Barrera & Mejía (1998)

## **2.4.1. MÉTODOS DIRECTOS PARA DETERMINAR LA CALIDAD DE COCCIÓN**

### **a. Análisis sensorial**

Las técnicas directas para definir la calidad de cocción han ido evolucionando, siendo la evaluación sensorial con paneles entrenados y no entrenados la más utilizada (Van Loey *et al.*, 1995; C. R. Wang *et al.*, 1988). Posteriormente Yeung *et al.* (2009) propusieron una clasificación que se relaciona con el punto de cocción, empleando un solo evaluador capacitado; se clasificó como: 1 = poco cocido, 2 = ligeramente poco cocido, 3 = cocido, 4 = ligeramente recocado y 5 = recocado.

Al respecto, Wood (2017) indica que las desventajas de utilizar pruebas sensoriales se deben a una respuesta individual y subjetiva de los panelistas, el número de panelistas necesarios puede ser alto, el costo de encontrar participantes fiables y la fatiga sensorial de los panelistas. Por el contrario, en algunas muestras se puede detectar la “arenosidad” en la boca, además el “aroma” y la “opacidad del caldo” también se pueden incluir como medidas de determinación del tiempo de cocción.

### **b. Método táctil**

Según Wood (2017), esta es la primera metodología que evaluó el tiempo de cocción de las legumbres y que todavía se utiliza en algunos laboratorios. Yeung *et al.* (2009) estableció una clasificación para el método táctil por escalas (Tabla 4) que lo relaciona con el punto de cocción, empleando un evaluador capacitado en presionar la semilla cocida entre el pulgar y el índice.

### **c. Método de cocción automatizado Mattson**

El método consiste en unos émbolos huecos individuales sujetos a perdigones de plomo, cada uno de los cuales se apoya a una única semilla. A continuación, se agrega agua hirviendo y se pone en marcha un temporizador. El tiempo de caída del émbolo, cuando la

cubierta de la semilla y los cotiledones se ablandan lo suficiente se registra por un ordenador en los sistemas automatizados (Wood, 2017).

**Tabla 4: Clasificación que relaciona punto de cocción con textura táctil de legumbres cocidas**

<b>Escala</b>	<b>Punto de cocción</b>	<b>Textura táctil</b>
1	Poco cocido	El grano es difícil o no se puede aplastar y el cotiledón se siente duro
2	Ligeramente crudo	El grano es menos difícil de aplastar y el cotiledón se siente ligeramente duro
3	Cocido promedio	El grano es firme, pero se aplasta fácilmente y el cotiledón se siente suave
4	Ligeramente recocado	Hay poca resistencia para aplastar el grano y el cotiledón se siente blando
5	Recocado	El grano se aplasta fácilmente

FUENTE: Tomado de Yeung *et al.* (2009)

Las investigaciones que determinan el tiempo de cocción con un cocedor automático Mattson consideran el tiempo en que el émbolo penetra un amplio rango de semillas, encontrándose reportes que van del 50 al 100 % (Berrios *et al.*, 1999; Laurent *et al.*, 2008; Nosworthy *et al.*, 2017; Schoeninger *et al.*, 2014; Siqueira *et al.*, 2016; Wani *et al.*, 2013). En la Tabla 5 se presenta el tiempo de cocción de algunas legumbres usando el sistema Mattson y el sistema táctil (Nosworthy *et al.*, 2017).

En relación a los inconvenientes del método, Wood (2017) menciona que este cocedor no resulta adecuado para las semillas muy pequeñas o muy grandes, como lentejas o habas; por un lado, las pequeñas se pueden escapar de la sonda, mientras que las de gran tamaño pueden no caber entre los émbolos. Asimismo, el grosor de la cubierta de las semillas y su resistencia a la perforación pueden conducir a resultados engañosos, de modo que el ajuste de la metodología para su uso particular en cada semilla hace de éste un método difícil.

**Tabla 5: Tiempos de cocción de nueve muestras de legumbres**

<b>Legumbre</b>	<b>Tiempo de cocción (min)</b>
Guisante verde partido <sup>1</sup>	34
Guisante amarillo partido <sup>1</sup>	37
Lenteja verde <sup>1</sup>	26
Lenteja roja partida <sup>1</sup>	12
Kabuli garbanzo <sup>2</sup>	22.7
Frijol blanco <sup>2</sup>	18.6
Frijol pinto <sup>2</sup>	19.2
Frijol rojo claro <sup>2</sup>	24.5
Frijol negro <sup>2</sup>	18.5

<sup>1</sup>Tiempos determinados por método táctil modificado y <sup>2</sup>Cocedor Automatizado Mattson  
FUENTE: Tomado de Nosworthy *et al.* (2017)

#### **2.4.2. MÉTODOS INDIRECTOS PARA DETERMINAR LA CALIDAD DE COCCIÓN**

Dado que la medición directa del tiempo de cocción es problemática y lenta, y en algunos casos la subjetividad puede conducir a errores; es importante evaluar métodos predictivos indirectos, prácticos y medibles que contribuyan a los tiempos de cocción. Estos métodos indirectos requieren tiempos de cocción predeterminados, los cuales variaran en función de la especie, la forma y los objetivos de análisis en la muestra de interés (Bento *et al.*, 2020; Wood, 2017). Asimismo, se atribuyen como propiedades tecnológicas de la calidad de cocción a la absorción de agua antes y después de la cocción, el tiempo de cocción, la textura, el porcentaje de sólidos solubles en el caldo y el color del caldo (Bento *et al.*, 2021).

### **a. Pérdida de sólidos**

El porcentaje de pérdida de sólidos se utiliza comúnmente para determinar el tiempo óptimo de cocción como una medida de pérdida nutritiva y de calidad. La relación entre los sólidos dispersos y el tiempo de cocción preestablecida es positiva. Sin embargo, aunque esté correlacionada con el tiempo de cocción, no puede usarse únicamente este parámetro para predecir el tiempo de cocción y requiere del análisis de otras características (Wood, 2017).

### **b. Análisis de textura**

Para determinar la calidad de cocción, el análisis de textura instrumental se ha aplicado cada vez más debido a su rápida y práctica ejecución (Abdel-Aal *et al.*, 2019; Revilla, 2015; Siqueira *et al.*, 2013; Wani *et al.*, 2017). Esto se debe a que la dureza o resistencia a la compresión durante la masticación es una de sus principales propiedades sensoriales que influyen en la aceptación de las legumbres cocidas por parte del consumidor (Bento *et al.*, 2021; N. Wang *et al.*, 2012).

La determinación del grado de firmeza de las muestras como una estimación indirecta de los tiempos de cocción, viene utilizando algunos métodos, entre ellos se tiene: el método de punción, donde la evaluación de la firmeza se da mediante la penetración de una sonda (simple o múltiple) en cada una de las semillas y los datos se expresan como fuerza (N) (Wood, 2017); el método de deformación o análisis del perfil de textura (TPA), prueba de doble compresión que se utiliza para conocer el comportamiento de las muestras cuando se mastican con los molares, proporciona información sobre la dureza, la cohesividad, la elasticidad, la gomosidad y la resistencia (Bento *et al.*, 2021); el método oficial de la AACCC (*American Association of Cereal Chemists*) por cizallamiento con una celda Kramer, adoptado para evaluar la firmeza del legumbres, se define como la fuerza máxima necesaria para cortar las legumbres cocidas y se expresa como la fuerza máxima de corte por gramo de muestra cocida (N/g) (N. Wang *et al.*, 2012).

Respecto a la variabilidad de los resultados, N. Wang *et al.* (2012) & Wood (2017) indican que se debe a la diferencia de tamaños de las semillas, al equipo utilizado y a los parámetros de medición. Sin embargo, es posible que, al expresar los resultados en fuerza por gramo de muestra, se pueda reducir la variabilidad.

## 2.5. ANÁLISIS FÍSICO Y QUÍMICO EN LEGUMINOSAS

### 2.5.1. DESCRIPTORES MORFOLÓGICOS

Los descriptores son características o atributos de expresión fácil que ayudan a simplificar la clasificación y uso de datos. Los descriptores de clasificación permiten la discriminación fácil (fenotipo), son altamente heredables, se pueden detectar a simple vista y se expresan igual en todos los ambientes.

Las características morfológicas principales para la selección de variantes son el color de la semilla, tamaño, hábito de crecimiento y adaptación al clima adverso; la importancia de la selección se debe a que es un factor evolutivo responsable del mantenimiento y ampliación de la variación morfológica (Franco & Hidalgo, 2003). Los descriptores morfológicos considerados para las semillas de legumbres pueden ser cualitativos y cuantitativos, algunos de estos se presentan en la Tabla 6.

**Tabla 6: Descriptores morfológicos para *Phaseolus vulgaris***

<b>Variables cualitativas</b>	<b>Variables cuantitativas</b>
Color primario de la semilla	Tamaño de la semilla
Color secundario de la semilla	Peso de 100 semillas
Distribución del color secundario	
Forma de la semilla	
Aspecto de la testa	
Venas en la semilla	
Color alrededor del hilum	

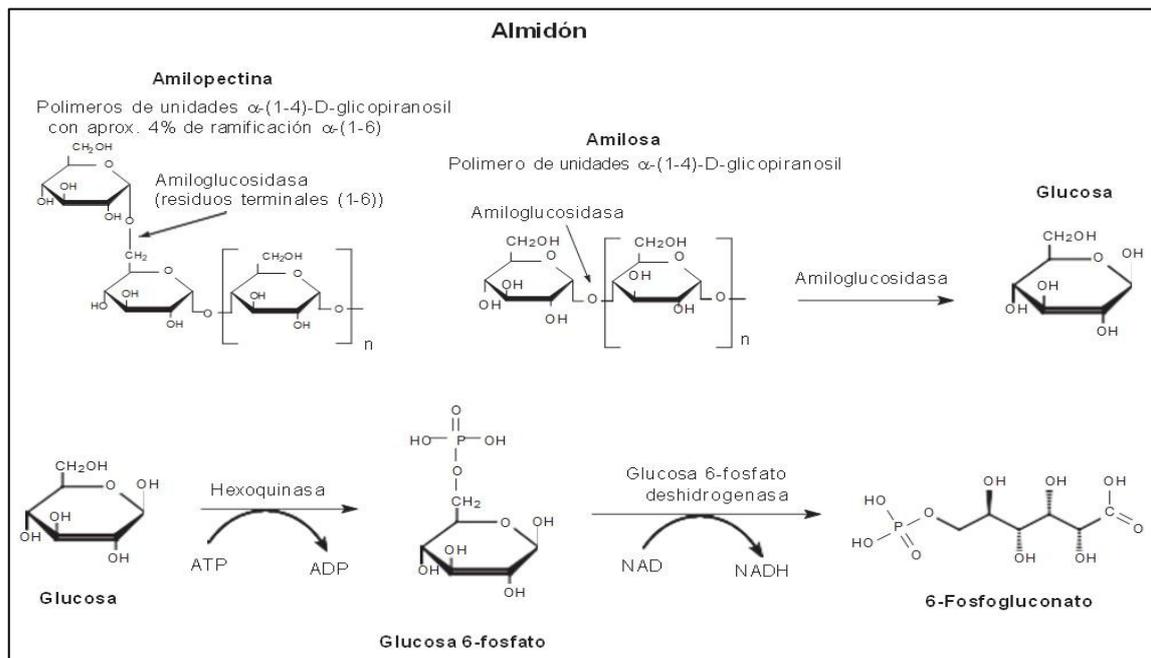
FUENTE: Adaptado de IPGRI (2001)

### 2.5.2. ALMIDON TOTAL

Los carbohidratos constituyen en promedio el 60 % del peso seco de las legumbres de grano (Vargas-Torres *et al.*, 2006), de ello, el almidón es uno de los polisacáridos más importantes y puede llegar a representar el 45 % del peso de la semilla (McCrary *et al.*, 2010). El almidón

se encuentra en forma de gránulos compuestos de amilosa (polímero lineal de unidades de  $\alpha$ -D-glucosa unidas por enlaces  $\alpha$ -1,4 glucosídicos) y amilopectina (polímero ramificado de unidades de  $\alpha$ -D-glucosa unidas por enlaces  $\alpha$ -1,4 y  $\alpha$ -1,6 glucosídicos) (FAO, 1999).

Una de las formas para cuantificar el contenido de almidón nativo de una matriz alimentaria, previamente solubilizado, inicia con la hidrólisis del almidón en glucosa por acción de la amiloglucosidasa. Luego la glucosa es fosforilada por la adenosina trifosfato (ATP) en la reacción catalizada por la hexoquinasa. A continuación, la glucosa-6-fosfato se oxida a 6-fosfogluconato en presencia de nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) en una reacción catalizada por la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa. Durante esta oxidación, una cantidad equimolar de NAD se reduce a NADH (Figura 4). El consiguiente aumento de la absorbancia a 340 nm es directamente proporcional a la concentración de glucosa (Sigma-Aldrich, 2013).



**Figura 4: Reacción enzimática del almidón con amiloglucosidasa-hexoquinasa-glucosa 6-fosfato deshidrogenasa**

FUENTE: Adaptado de Sigma-Aldrich (2007)

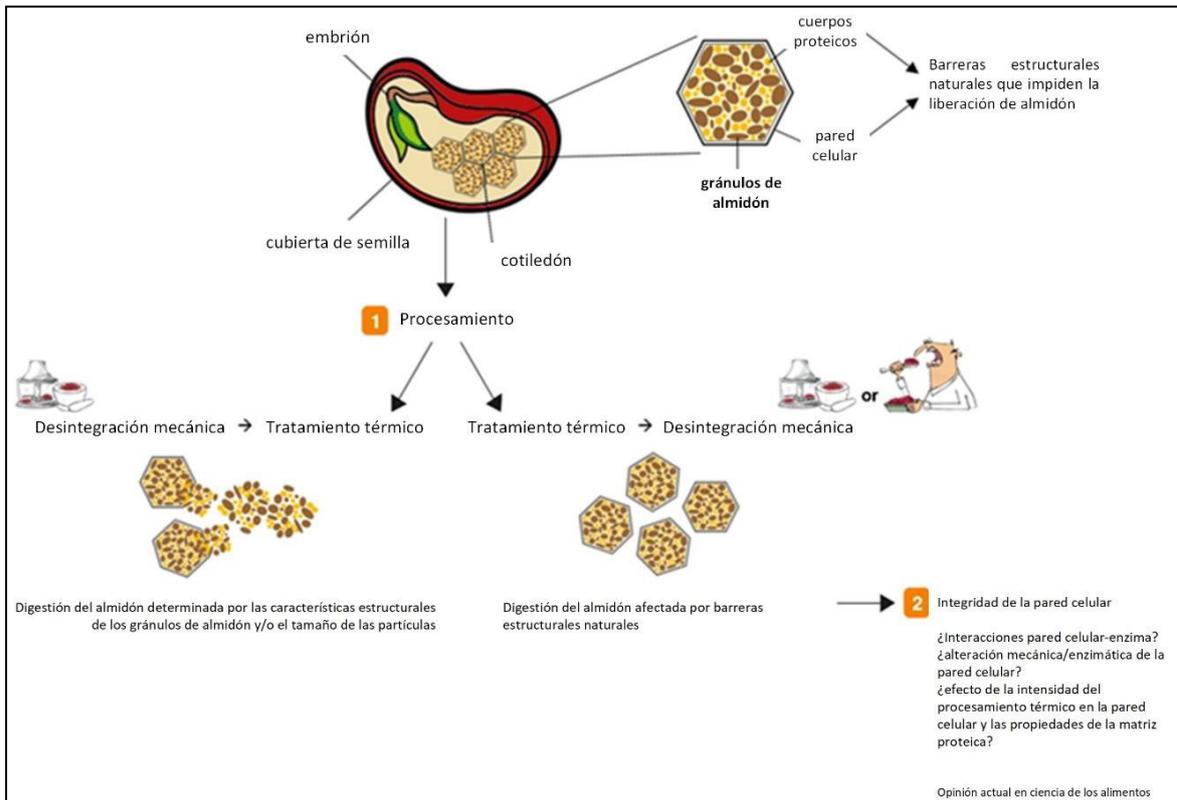
### 2.5.3. DIGESTIBILIDAD DEL ALMIDÓN *IN VITRO* E ÍNDICE GLUCÉMICO

Luego de un determinado tratamiento térmico se obtiene almidón digerible el cual es hidrolizado durante la digestión humana en varias etapas. En la boca, la  $\alpha$ -amilasa salival

actúa con bastante eficacia sobre el almidón, pero se degrada rápidamente por el medio ácido del estómago y, por lo tanto, desempeña un papel secundario. Una vez que entra en el intestino la mayoría de la hidrólisis se lleva a cabo por la  $\alpha$ -amilasa pancreática. Los principales productos resultantes, maltosa, maltotriosa y  $\alpha$ -dextrinas, son hidrolizados eficientemente por la acción de enzimas específicas del borde del cepillo del intestino (maltosa-glucoamilasa, sucrasa-isomaltasa, lactasa, etc.) para convertirse en glucosa y llegar al torrente sanguíneo (Lehmann & Robin, 2007; Singh *et al.*, 2010).

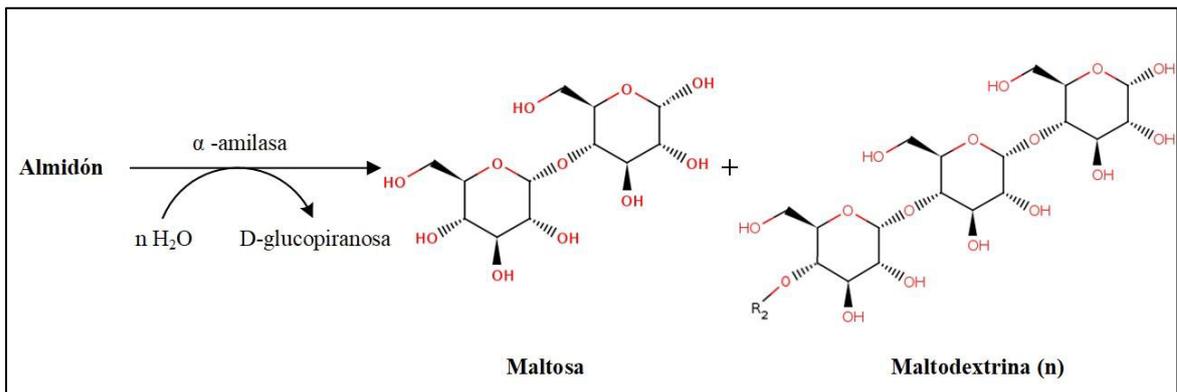
En las plantas, los gránulos de almidón están contenidos dentro de las células y las paredes celulares intactas pueden limitar el acceso al agua y las enzimas digestivas, lo que dificulta la gelatinización y la digestibilidad; por lo tanto, las propiedades estructurales de la matriz alimentaria y el procesamiento hidrotermal (cocción en agua) y mecánico (molienda) influyen en su digestibilidad (Figura 5) (Butterworth *et al.*, 2022; Verkempinck *et al.*, 2020). Por otro lado, los métodos *in vitro* son fáciles, rápidos y pueden ser menos costosos; sin embargo, los inconvenientes son las diferencias en las operaciones y los parámetros experimentales para simular con precisión el complejo proceso de digestión (Drulyte & Orlie, 2019). Por este motivo, es difícil clasificar los almidones de legumbres con respecto a su susceptibilidad a la  $\alpha$ -amilasa, debido a las diferencias en la concentración de la enzima, el tiempo de hidrólisis y la fuente de  $\alpha$ -amilasa (Butterworth *et al.*, 2012; Hoover & Zhou, 2003).

La  $\alpha$ -amilasa aislada del páncreas porcino es una glicoproteína que está formada por una cadena polipeptídica de aproximadamente 475 residuos que contiene dos grupos azufre-hidrógeno (-SH), cuatro puentes disulfuro y un  $\text{Ca}^{2+}$  fuertemente unido necesario para la estabilidad. Una unidad liberará 1 mg de maltosa del almidón en 3 minutos a pH 6.9 a 20 °C (Sigma-Aldrich, 2018). La enzima cataliza de forma aleatoria la endohidrólisis de enlaces (1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -D-glucosídicos en amilosa, amilopectina y oligosacáridos relacionados. El enlace (1 $\rightarrow$ 6) no se hidroliza. La dirección del ataque múltiple es desde el extremo reductor hacia el extremo no reductor y se da la formación de maltosa, maltotriosa y maltotetraosa (Figura 6) (Hoover & Zhou, 2003).



**Figura 5: Efecto del procesamiento en las propiedades microestructurales de las legumbres y su posterior digestibilidad de macronutrientes (almidón)**

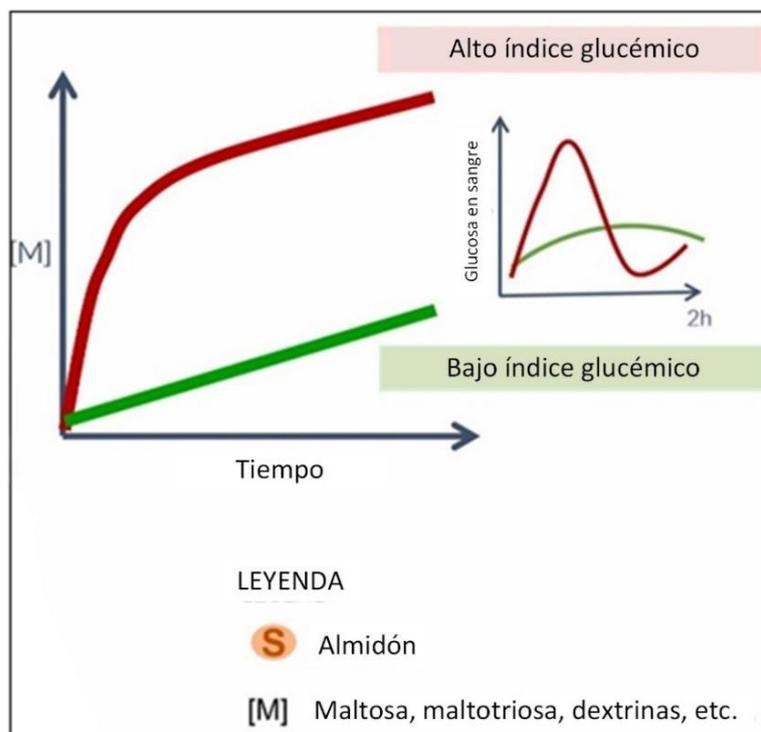
FUENTE: Adaptado de Verkempinck *et al.* (2020)



**Figura 6: Reacción de hidrólisis enzimática del almidón por  $\alpha$ -amilasa**

FUENTE: Adaptado de Fulcher CA & SRI International (2011)

Los estudios cinéticos enzimáticos están relacionados con la estructura, las propiedades y la composición del almidón y los alimentos ricos en almidón, desde un punto de vista nutricional. Así, los estudios *in vitro* de la digestión del almidón por la  $\alpha$ -amilasa modelan las primeras etapas de la digestión y pueden sugerir respuestas glucémicas esperadas, esto se representa en la Figura 7 (Butterworth *et al.*, 2022). El índice glucémico (IG) mide la influencia de un alimento en el nivel de azúcar en la sangre y en la hormona insulina. Cuanto menos un alimento haga subir el nivel de azúcar, menos insulina requerirá, y menor será su índice glucémico o viceversa (Grillparzer, 2006). Por lo tanto, los alimentos bajos en índice glucémico son beneficiosos en el tratamiento de los trastornos cardiometabólicos (diabetes tipo 2, enfermedad cardiovascular, etc.) (Butterworth *et al.*, 2022).



**Figura 7: Relación de la digestión del almidón *in vitro* con el índice glucémico**

FUENTE: Adaptado de Butterworth *et al.* (2022)

#### 2.5.4. DIGESTIBILIDAD DE LA PROTEÍNA *IN VITRO*

Las proteínas son macronutrientes que juegan un papel esencial a nivel estructural y funcional. Son polímeros complejos formados a partir de diferentes secuencias de 20

aminoácidos que se pueden clasificar como: i) proteínas estructurales (colágeno, queratina, etc.) y ii) proteínas con actividad biológica (enzimas, hormonas, proteínas con actividad inmunológica, proteínas de reserva, etc.) (Bessada *et al.*, 2019). Generalmente se encuentran de manera significativa como proteína vegetal en las legumbres (22 – 30 %). Debido a ello, en las regiones en desarrollo, suelen ser el componente principal de la dieta.

El análisis multienzimático de la digestibilidad de la proteína *in vitro* generalmente incluye tripsina, quimotripsina y peptidasa, con algunas excepciones utilizando una solución única de tripsina o pepsina o, secuencialmente, soluciones de pepsina y pancreatina. Comúnmente, se agrega una alícuota de la solución enzimática a una solución de la muestra a pH 8.0. La mezcla de muestra y solución enzimática se incuba durante 10 minutos a 37 °C. Se registra la disminución del pH durante el período de incubación, causada por los grupos carboxilo de aminoácidos libres de la cadena de proteínas liberados por las enzimas proteolíticas durante la digestión (Drulyte & Orlie, 2019).

### **2.5.5. INHIBIDORES DE TRIPSINA**

En las legumbres los compuestos antinutricionales más comunes son inhibidores enzimáticos, como los inhibidores de tripsina, quimotripsina y  $\alpha$ -amilasa. Los inhibidores de tripsina, son los antinutrientes más estudiados en legumbres, estos son proteínas de bajo peso molecular (Y. Kumar *et al.*, 2022); pertenecen a dos familias, Kunitz y Bowman-Birk que inhiben las serinas proteasas pancreáticas perjudicando la digestión de las proteínas (Guillamón *et al.*, 2008).

Una de las determinaciones comúnmente empleadas es el método Ba 12a-2020 planteado por la AOCS, donde los inhibidores de tripsina se extraen de una muestra con una solución de NaOH, luego se añade un sustrato sintético (DL-BAPA) al extracto diluido (en presencia de inhibidores) o agua (en ausencia de inhibidores). A esto le sigue la adición de tripsina. La hidrólisis del sustrato por la enzima genera p-nitroanilida, que es un compuesto cromogénico (amarillento) y se puede medir colorimétricamente. La diferencia de absorbancia a 410 nm entre la ausencia y la presencia de los inhibidores en el sistema de ensayo es la base para calcular la actividad del inhibidor de tripsina (Liu, 2021).

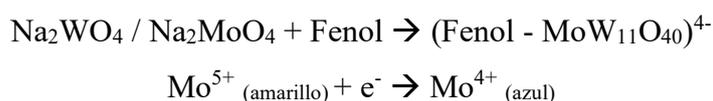
## 2.5.6. COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES

Los compuestos fenólicos se encuentran en todas las plantas como sus metabolitos secundarios, éstos son sintetizados por ellas durante su desarrollo normal, así como en respuesta a condiciones de estrés (Hogervorst *et al.*, 2017). En su estructura, al menos un anillo aromático con uno o más grupos hidroxilos adheridos está presente (Hogervorst *et al.*, 2017). Debido a su amplia distribución en las plantas, se pueden clasificar de diferentes maneras. Se han clasificado por su fuente de origen, distribución natural, función biológica y estructura química. Según su estructura química, los compuestos fenólicos vegetales se clasifican en ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos, lignanos y otros; siendo los flavonoides los compuestos fenólicos más ampliamente distribuidos y estudiados en los alimentos vegetales (Belščak-Cvitanović *et al.*, 2018). Dentro de las clases de flavonoides, las más importantes son los flavonoles, flavanoles, flavonas, isoflavonas, antocianidinas o antocianinas y flavanonas (Belščak-Cvitanović *et al.*, 2018).

Los ácidos fenólicos, los taninos y los flavonoides son los responsables del sabor amargo y el color oscuro de las semillas. Las legumbres de color oscuro y pigmentadas generalmente tienen más contenido fenólico en comparación con las variedades de color claro (Y. Kumar *et al.*, 2022). Debido a ello el contenido de fenoles totales se expresa en equivalentes de ácido gálico el cual es un ácido hidroxibenzoico, perteneciente a los ácidos fenólicos, sustancia que se conjuga principalmente en granos y semillas actuando como potente antioxidante (Zhong *et al.*, 2018). Asimismo, Zhong *et al.* (2018) menciona que, las leguminosas contienen principalmente flavonoides en la cubierta de la semilla y no flavonoides tales como ácidos hidroxicinámicos e hidroxibenzoico en el cotiledón. Siendo casi exclusivamente las isoflavonas las que se encuentran en plantas leguminosas (Welch *et al.*, 2008).

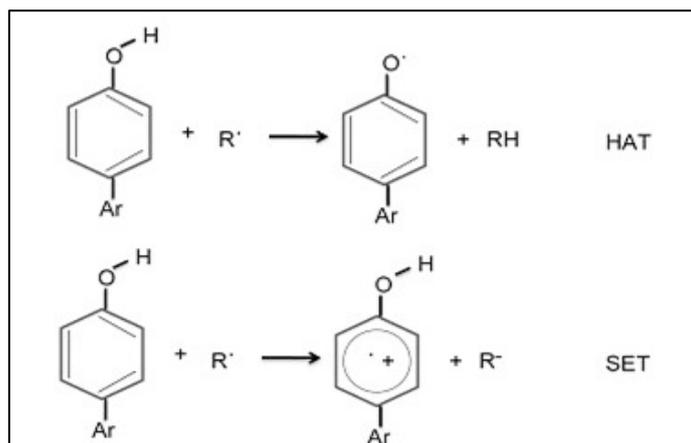
Por otro lado, el estudio de los compuestos fenólicos en las leguminosas puede ser de importancia dado que inhiben el crecimiento de algunos microorganismos del intestino que hidrolizan los oligosacáridos principales en las legumbres (sacarosa, estaquiosa y verbascosa), y por tanto también evitar las flatulencias (Belitz *et al.*, 2009; Mohan *et al.*, 2016).

El ensayo de Folín-Ciocalteu fue pensado originalmente para analizar proteínas, aprovechando el grupo fenol en tirosina. Entonces, Singleton *et al.* (1999) extendió este ensayo para medir fenoles totales en vino. El método colorimétrico se utiliza para determinar los compuestos fenólicos totales presentes en una mezcla, ya que son los principales antioxidantes que se encuentran en las matrices naturales (Antonio *et al.*, 2016). Este método se basa en la capacidad de reacción de todas las especies reductoras de la muestra analizada bajo condiciones alcalinas (5-10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> acuoso) sobre el reactivo Folín-Ciocalteu (Antonio *et al.*, 2016; Singleton *et al.*, 1999). El reactivo es una mezcla de tungsteno y molibdeno que tras ser reducidos por los grupos fenólicos y otros compuestos reductores pasa del color amarillo a un complejo de color azul, la intensidad del color azul puede ser monitoreado por un espectrofotómetro (Antonio *et al.*, 2016; Singleton & Rossi, 1965). La reacción colorimétrica se muestra a continuación:



### 2.5.7. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

Las moléculas antioxidantes presentes en los alimentos son capaces de eliminar directamente las especies reactivas de oxígeno (ROS), actuar en la regulación de las defensas antioxidantes, inhibir la producción de estas especies y formar nuevos radicales que son estables (Antonio *et al.*, 2016). Los antioxidantes actúan de acuerdo con dos mecanismos (Figura 8): Métodos basados en HAT miden la capacidad de un antioxidante (ArOH) para eliminar los radicales libres (R·) mediante la donación de átomos de hidrógeno. Mientras que los métodos basados en SET expresan la capacidad de un potencial antioxidante de transferir un solo electrón para reducir cualquier compuesto, incluyendo iones metálicos, carbonilos y radicales (Amarowicz & Pegg, 2019). Se han adoptado dos tipos de enfoques, a saber, los ensayos de inhibición, en los que el grado de barrido por hidrógeno o donación de electrones de un radical libre preformado es el marcador de la actividad antioxidante, así como los ensayos que implican la presencia del sistema antioxidante durante la generación del radical (Re *et al.*, 1999).

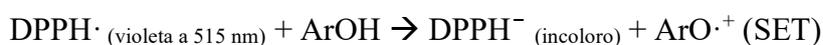


**Figura 8: Mecanismo de transferencia de átomos de hidrógeno (HAT) y transferencia de un solo electrón (SET)**

FUENTE: Tomado de Belščak-Cvitanović *et al.* (2018)

#### a. Ensayo de eliminación del radical DPPH

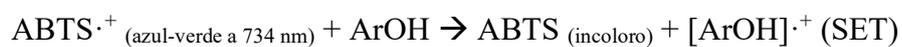
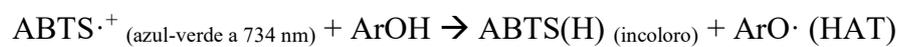
El radical DPPH (2,2-Difenil-1-picrilhidracilo) es uno de los pocos radicales orgánicos de nitrógeno estables, que lleva un color morado oscuro. Está disponible comercialmente y no tiene que ser generado antes del ensayo como en el ABTS. Este ensayo se basa en la medición de la capacidad reductora de los antioxidantes hacia el DPPH en solución alcohólica generando la forma no radical difenilpicrilhidrazina DPPH(H) en la reacción (Gülçin, 2012). Donde las moléculas antioxidantes pueden inhibir los radicales libres DPPH· por mecanismo HAT y SET o mixto (Amarowicz & Pegg, 2019).



#### b. Ensayo de decoloración de cationes radicales ABTS

El catión radical ABTS (ácido 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)) es soluble en ambos disolventes acuosos y orgánicos, y no se ve afectado por la fuerza iónica; por lo tanto, se puede utilizar en múltiples medios para determinar capacidades antioxidantes hidrófilos y lipófilos de extractos (Gülçin, 2012; Re *et al.*, 1999). El método propuesto por Re *et al.* (1999) implica la generación directa de  $\text{ABTS}\cdot^+$  como catión preformado por la oxidación de ABTS con persulfato de potasio. Así, el grado de decoloración como porcentaje

de inhibición del catión radical ABTS se determina en función de la concentración y el tiempo y se calcula en relación con la reactividad de Trolox como estándar, en las mismas condiciones (Re *et al.*, 1999).



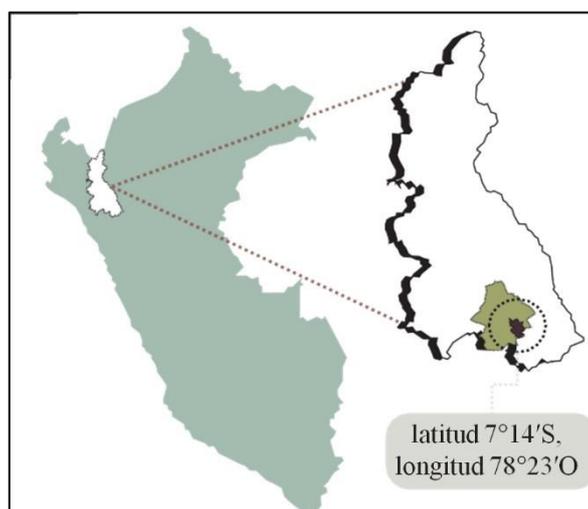
### III. METODOLOGÍA

#### 3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN

Las actividades se realizaron en los laboratorios de Análisis Físicoquímico de Alimentos, Investigación e Instrumentación de Alimentos y Planta Piloto de Alimentos de la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

#### 3.2. MUESTRA DE ESTUDIO

Las semillas de pajuro frescas y maduras fueron cosechadas el mes de diciembre del 2018 en el distrito de Jesús (latitud 7°14'S, longitud 78°23'O, 2564 m.s.n.m.), provincia de Cajamarca–Perú (Figura 9).



**Figura 9: Lugar de procedencia de las semillas de pajuro**

FUENTE: Adaptado de Delgado-Soriano *et al.* (2020)

### **3.3. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS**

#### **3.3.1. MATERIALES**

- Filtro Millex-HV Durapore (PVDF) 0.45  $\mu\text{m}$  33 mm
- Frascos ámbar
- Jeringa de 20 mL
- Mascarilla 3M con filtro para solventes orgánicos
- Material de vidrio: Vasos precipitado, bureta, erlenmeyer, pipeta, probeta, placas Petri, tubos de ensayo, fiolas, embudos, bagueta.
- Microtubos de 2 mL
- Papel filtro rápido, papel filtro de fibra
- Papel toalla, papel aluminio y tissue
- Tips de 10, 200, 1000 y 5000  $\mu\text{L}$
- Tubos cónicos de 10 y 50 mL

#### **3.3.2. EQUIPOS E INSTRUMENTOS**

- Agitador magnético MR-HETTEC HEIDOLPH®
- Agitador vortex LP THERMO SCIENTIFIC®
- Balanza analítica GH-252 A&D®
- Balanza de precisión OHAUS ADVENTURER®
- Baño maría 1083 GFL®
- Campana extractora eléctrica CEX-150 C4®
- Centrifuga refrigerada U-320R BOECO GERMANY®
- Cocina eléctrica Dinamic Inox MGF8013 MAGEFESA®
- Colorímetro CR400 KONICA MINOLTA®
- Conductímetro INOLAB®
- Cronómetro CASIO®
- Equipo de destilación Kjeldahl
- Espectrofotómetro Genesys 10S UV-Vis THERMO SCIENTIFIC®

- Estufa VENTICELL 111R MMM-Group®
- Extractor Soxhlet BEHROTEST®
- Texturómetro 3365 INSTRON®
- Micropipetas 0.5-10 µL, 20-200 µL, 100-1000 µL y 1000-5000 µL
- Molino de impacto de rotor SR300 con alimentador vibratório DR100 RETSCH®
- Mufla HERAUS®
- Potenciómetro HI9026 HANNA®
- Refrigerador/Congelador RN31 COLDEX®
- Secador de bandejas
- Tamiz Anular Abertura 3.0 P/SR300 y 0.2 P/SR300
- Tamizador W.S. TYLER
- Termómetro (0-100° C ± 2°)
- Vernier

### 3.3.3. REACTIVOS

- Ácido 2,2'-Azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS) - No. Cat. A1888, Sigma-Aldrich®, Co. USA
- Ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS)
- Ácido -6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (Trolox) - No. Cat. 238813, Sigma-Aldrich®, Co. USA
- Ácido acético 50%
- Ácido clorhídrico PA, Scharlau®
- Ácido gálico anhidro - No. Cat. 8.42649, Merck®, Co. USA
- Bisulfito de sodio, Merck®
- Carbonato de sodio, Merck®
- Caseína, Merck®
- Clorhidrato de benzoil-DL-arginina-p-nitroanilida (DL-BAPNA) - No. Cat. B4875, Sigma-Aldrich®, Co. USA
- Cloruro de calcio - No. Cat. 1.02382, EMSURE®, Alemania
- Dimetil sulfóxido (DMSO) - No. Cat. 515505, CDH®, India
- Fenol Folin-Ciocalteu 2N - No. Cat. 1.09001, Merck®, Co. USA

- Fosfato dibásico de sodio anhidro - No. Cat. 643385, CDH®, India
- Fosfato monobásico de sodio monohidratado - CDH®, India
- Hidróxido de sodio - No. Cat. 1.06498, EMSURE®, Alemania
- Kit de ensayo de almidón total - No. Cat. SA20, Sigma-Aldrich®, Co. USA
- Maltosa anhidra, Merck®
- Metanol HPLC, J.T. Baker®
- Pancreatina de páncreas porcino 8 x USP especificaciones - No. Cat. P7545, Sigma-Aldrich®, Co. USA
- Persulfato de potasio - No. Cat. 010218, CDH®, India
- Radical 2,2-Difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) - Sigma-Aldrich®, Co. USA
- Tartrato de sodio y potasio - No. Cat. GRM598, HIMEDIA®, India
- Tripsina de páncreas porcino (tipo IX-S, 13000-20000 und BAEE/mg proteína) - No. Cat. T0303, Sigma-Aldrich®, Co. USA
- Trizma® base - No. Cat. T1503, Sigma-Aldrich®, Co. USA
- $\alpha$ -amilasa de páncreas porcino (tipo IA 1184 U/mg proteína) (20 mg/mL solución salina) EC 3.2.1.1 - No. Cat. A6255, Sigma-Aldrich®, Co. USA

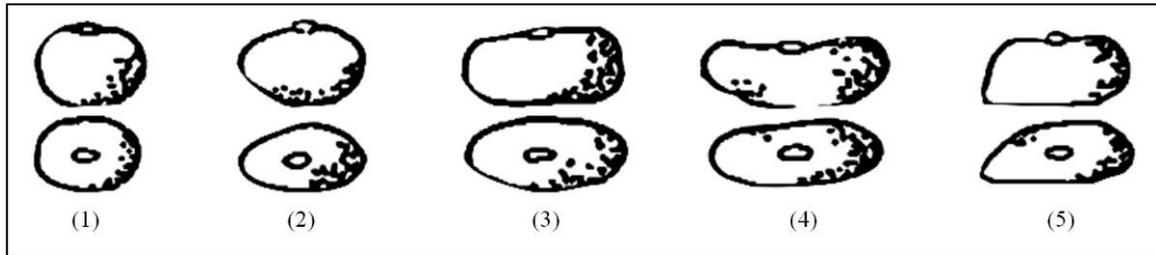
### 3.4. MÉTODOS DE ANÁLISIS

#### 3.4.1. CARACTERIZACIÓN FÍSICA

##### a. Forma, dimensión y peso de 100 semillas

Para algunas características morfológicas de las semillas de pajuro se emplearon los descriptores de frijol común (*Phaseolus vulgaris*) descritos por el Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI, 2001). Para ello, se evaluaron tres descriptores (uno cualitativos y dos cuantitativo), los cuales se describen a continuación:

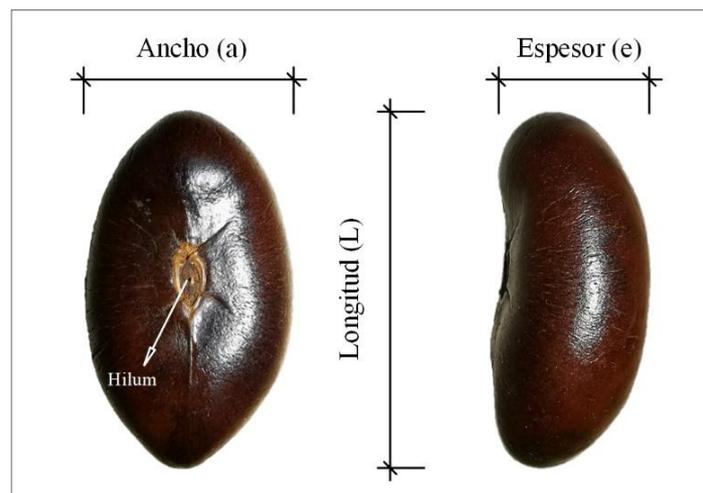
- La forma de las semillas se determinó de acuerdo a la clasificación para *Phaseolus vulgaris* (Figura 10).



**Figura 10: Clasificación de las formas para *Phaseolus vulgaris*: (1) Redonda, (2) Oval, (3) Cuboide, (4) Reniforme, (5) Alargada truncada**

FUENTE: Tomado de IPGRI (2001)

- Las dimensiones promedio de tres repeticiones de un total de 30 semillas fue tomado para reportar el largo (paralelo al hilum), ancho (lado opuesto del hilum) y espesor (perpendicular al hilum), utilizando el vernier. Las dimensiones se expresaron en centímetros (Figura 11).



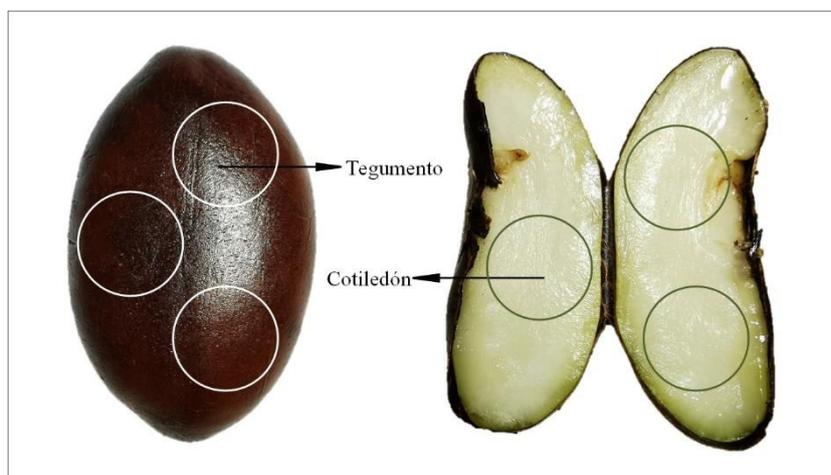
**Figura 11: Dimensiones consideradas en las semillas de pajuro**

- El peso de las semillas, se determinó escogiendo aleatoriamente 100 semillas, las cuales se encontraban a temperatura ambiente y con una humedad entre 13 y 14 %. El resultado fue expresado en gramos y trabajado por triplicado.

**b. Color del tegumento y cotiledón de la semilla**

El color del tegumento y cotiledón de la semilla de pajuro fresca y madura se determinó con la escala CIELAB utilizando el colorímetro CR400 Konica Minolta®. Los resultados se

expresaron en términos de luminosidad ( $L^*$ ), coordenada rojo/verde ( $a^*$ ), coordenada amarillo/azul ( $b^*$ ) y ángulo de tono ( $h^\circ$ ). Las mediciones se realizaron en tres puntos diferentes de un total de 20 semillas (Figura 12).



**Figura 12: Puntos de medición del color de las semillas**

### c. Porcentaje de tegumento y cotiledón

Se determinó de acuerdo a Caiza (2011), para ello las semillas se pelaron de forma manual para poder separar el tegumento del cotiledón. Ambas partes de 100 semillas se pesaron en una balanza de precisión. Se trabajó por triplicado y el resultado se expresó en porcentaje.

### 3.4.2. ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL

Se determinó la humedad (método gravimétrico, 925.10), proteína cruda (nitrógeno x 6.25 - método Kjeldahl, 984.13), extracto etéreo (método de Soxhlet 920.85), fibra cruda (método por digestión con  $H_2SO_4$  y NaOH seguido de la incineración de los residuos, 920.86) y ceniza (método gravimétrico por incineración, 923.03) de acuerdo a lo establecido por la AOAC (2016). Los análisis se determinaron por triplicado y los resultados se expresaron en materia seca (ms).

Los carbohidratos totales (ms) se determinaron por diferencia según las tablas peruanas de composición de alimentos (Reyes García *et al.*, 2017) de acuerdo con la Ecuación 1:

$$\text{Carbohidratos totales (\%)} = 100 - (\% \text{ proteína} + \% \text{ extracto etéreo} + \% \text{ ceniza}) \quad (1)$$

La energía se determinó empleando el sistema de factores generales de Atwater (FAO, 2003) de acuerdo con la Ecuación 2:

$$\text{Energía (kcal)} = \left( \text{g proteína} \times 4 \frac{\text{kcal}}{\text{g}} \right) + \left( \text{g extracto etéreo} \times 9 \frac{\text{kcal}}{\text{g}} \right) + \left( \text{g carbohidratos totales} \times 4 \frac{\text{kcal}}{\text{g}} \right) \quad (2)$$

### 3.4.3. CALIDAD DE COCCIÓN

#### a. Cocción de las semillas

Se colocaron 750 mL de agua destilada en una olla de 2.5 L y se llevó a ebullición (90 °C), inmediatamente se colocaron 250 g de semillas de pajuro frescas y maduras, se controló el tiempo de cocción (20, 25, 30 y 35 minutos) permitiendo obtener los tratamientos experimentales (Anexo 1 y 2). Este procedimiento se realizó por triplicado.

#### b. Pérdida de sólidos de pajuro hacia el agua de cocción

Según Nasar-Abbas *et al.* (2008) para medir los solutos lixiviados en el agua de cocción, se concentró y se evaporó todo el líquido en una estufa a 105 °C hasta peso constante (Anexo 3). El resultado se expresó como los sólidos perdidos en mg/100g (ms) de semilla cocida. Se determinó por triplicado.

#### c. Conductividad del agua de cocción

El agua de cocción se enfrió hasta temperatura ambiente y se determinó la conductividad de los electrolitos lixiviados, empleando un equipo Inolab, los resultados se expresaron en  $\mu\text{S/cm}$ , de acuerdo a lo establecido por (Miceli & Miceli, 2012). El procedimiento se realizó por triplicado.

#### **d. Firmeza estimada por dureza de semillas cocidas**

Se determinó según el método 56-36.01 de la (AACC, 2016) con algunas modificaciones. Cada tratamiento se coció en las mismas condiciones establecidas en el diseño. La semilla cocida se escurrió durante 15 segundos con un colador y luego se enfrió en un recipiente con 700 mL de agua destilada ( $20 \pm 2$  °C) durante 30 segundos. Nuevamente se escurrieron y se transfirieron a otro recipiente con 700 mL de agua destilada ( $20 \pm 2$  °C) durante 90 segundos adicionales. Luego de ser escurridas fueron transferidas a un vaso de precipitado envuelto en papel toalla para mantener la temperatura y humedad. Se utilizó el analizador de textura Instron 3365 con carga estática de 500 N y se usó la celda de corte miniKramer. Se cargó aproximadamente  $4.5 \pm 0.5$  g de semilla cocida sin cáscara (peso de medio cotiledón), colocada perpendicularmente en las aberturas del soporte de la celda de cizallamiento miniKramer (Anexo 4). Los parámetros del sistema fueron: 1) velocidad del brazo de 1.5 mm/seg durante la compresión de la muestra, 2) Precarga 10 gf, 3) Penetración 75 % de la altura de la muestra. Los valores de firmeza se expresaron en N/g semilla cocida y fueron un promedio de seis repeticiones con coeficiente de variabilidad menor al 10 %. Se usó la siguiente Ecuación 3:

$$\text{Firmeza} \left( \frac{\text{N}}{\text{g}} \right) = \frac{\text{Fuerza máxima de corte}}{\text{Peso de semilla cocina}} \quad (3)$$

#### **3.4.4. DETERMINACIÓN DE ALMIDÓN TOTAL**

El contenido de almidón se midió usando el kit de ensayo de almidón SA20 de acuerdo con el protocolo del fabricante (Sigma-Aldrich, 2013). Se solubilizó el almidón de la muestra mediante el método DMSO/HCl. Para ello, se pesó 0.2 g de las harinas de pajuro en un matraz con tapa, se agregó 20 mL de DMSO y 5 mL de HCl 8 N, la mezcla se llevó a incubación a 60 °C por 30 minutos con agitación. Luego se retiraron y se añadió 50 mL de agua desionizada y se ajustó el pH a 4.5 con NaOH 5 M. Se filtró y el sobrenadante se diluyó hasta 100 mL. A continuación, se siguió el protocolo del fabricante (Anexo 5).

### 3.4.5. DIGESTIBILIDAD DEL ALMIDÓN *IN VITRO* E ÍNDICE GLUCÉMICO

Se determinó según el método de Holm *et al.* (1985) con ligeras modificaciones, para ello se utilizó  $\alpha$ -amilasa de páncreas porcino (Tipo IA) que contenía 20 mg proteína/mL solución salina y 1184 U/mg proteína. Se prepararon 250 mL del tampón fosfato de sodio (TPS) 0.2 M a pH 6.9, mezclando 66.71 mL de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (0.4 M) con 58.3 mL de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (0.4 M) y se ajustó el pH con NaOH o HCl concentrados. Luego, se preparó una solución de trabajo DNS que contenía 10 g de DNS, 11 g de NaOH, 0.5 g de bisulfito de sodio y 2 g de fenol disueltos en 1 L de agua destilada. La solución de trabajo de  $\alpha$ -amilasa se obtuvo mezclando 10  $\mu\text{L}$  de la enzima con 2.8 mL de TPS para obtener una actividad amilasa de 85 U/mL (preparado máximo 30 minutos previos al comienzo de la hidrólisis). Para la reacción, se suspendieron 1.5 g de las harinas de semilla de pajuro en 50 mL de TPS (aproximadamente 1 % de almidón p/v), se preincubó en baño maría por 10 minutos hasta 37 °C y se tomó una alícuota de 100  $\mu\text{L}$  para el tiempo cero ( $t_0$ ). Inmediatamente se añadió 1.25 mL de solución de trabajo  $\alpha$ -amilasa y se tomaron alícuotas de 100  $\mu\text{L}$  a los 5, 15, 30, 60, 90 y 120 minutos de incubación a 37 °C. Las muestras fueron analizadas por el método de DNS a 550 nm frente a un blanco tampón reemplazando la alícuota por TPS, simultáneamente se realizó un blanco muestra (Anexo 6). La maltosa se utilizó como patrón y los valores se expresaron en mg de maltosa liberada por gramo de muestra para obtener la curva de calibración de seis puntos (Anexo 7), el análisis se realizó por triplicado. El grado de hidrólisis se expresó como la concentración de azúcares reductores en equivalentes de maltosa en cada momento de acuerdo con la Ecuación 4:

$$\text{mg maltosa } t_{0-120} = \frac{(\text{Abs}_{550 \text{ nm}} + b) \times 0.5}{m} \quad (4)$$

donde,

0.5: concentración de maltosa en la reacción.

b: intercepto de la curva estándar de maltosa.

m: pendiente.

Los datos obtenidos del análisis DNS se procesaron adicionalmente según Pälchen *et al.*, (2022) para corregir los azúcares reductores endógenos presentes en la muestra antes de la

adición de  $\alpha$ -amilasa y se expresó como porcentaje de almidón digerido *in vitro* de acuerdo con la Ecuación 5:

$$\text{Almidón digerido } in vitro (\%) = \frac{\text{mg maltosa } t_{5-120} - (\text{mg maltosa } t_0 - 1) \times 0.95 \times 100}{\text{mg almidón total}} \quad (5)$$

donde,

1: concentración de maltosa en 500 uL de blanco muestra.

0.95: factor de corrección de hidrólisis.

$t_{5-120}$ : tiempo a los 5, 15, 30, 60, 90 y 120 minutos.

#### a. Análisis de cinética de hidrólisis de almidón

El comportamiento cinético de la hidrólisis enzimática se evaluó mediante el modelo de primer orden propuesto por Goñi *et al.* (1997), las curvas de digestibilidad se pueden ajustar a la siguiente Ecuación 6:

$$C_t = C_\infty(1 - e^{-kt}) \quad (6)$$

donde,

$C_t$ : Almidón digerido *in vitro* calculado en el tiempo  $t$  (%).

$C_\infty$ : Almidón digerido en el punto final de la reacción (%).

$k$ : Constante de velocidad de primer orden ( $\text{min}^{-1}$ ).

#### b. Linealización de cinética de hidrólisis de almidón

Los cálculos se realizaron según el método denominado LOS por sus siglas en inglés *Log of Slope* (logaritmo de la pendiente) propuesto por Butterworth *et al.* (2012), quienes indicaron que para obtener estimaciones confiables de los valores de  $k$  y  $C_\infty$  para los posteriores cálculos de índices de hidrólisis (HI) se debe seguir los siguientes cálculos.

Diferenciación de la Ecuación 6, esta primera derivada representa la pendiente de una curva de digestibilidad en el tiempo  $t$ :

$$\frac{dC}{dt} = C_\infty k e^{-kt} \quad (7)$$

Expresando la Ecuación 7 en forma logarítmica se tiene:

$$\ln\left(\frac{dC}{dt}\right) = \ln(C_{\infty}k) - kt \quad (8)$$

Por lo tanto, se obtiene una gráfica denominada LOS, donde el  $\ln(dC/dt)$  contra  $t$  es lineal con una pendiente de  $-k$ . La intersección en el eje  $y$  es igual a  $\ln(C_{\infty}k)$  y, por lo tanto,  $C_{\infty}$  se puede calcular a partir del valor de  $k$  obtenido a partir de la pendiente de la gráfica.

El área bajo las curvas de digestibilidad (AUC) se obtiene de la integración de la Ecuación 6 entre los límites de  $t_0$  y un tiempo seleccionado  $t_{90}$ . Si  $t_0 = 0$ , esta ecuación se expresa como:

$$AUC_{90} = C_{\infty}t_{90} + \left(\frac{C_{\infty}}{k}\right)(e^{-kt_{90}} - 1) \quad (9)$$

El índice de hidrólisis (IH) se calculó dividiendo el área bajo las curvas durante la digestión del intestino delgado simulado ( $AUC_{90}$ ) por el de una muestra de referencia ( $AUC_{90 \text{ referencia}}$ ), pan blanco, usando la siguiente Ecuación 10:

$$IH_{90} = \left(\frac{AUC_{90}}{AUC_{90 \text{ referencia}}}\right) \times 100 \quad (10)$$

### c. Evaluación del Índice Glucémico predicho (IGp)

El IGp se estimó a partir del  $IH_{90}$  y los valores relativos se calcularon de acuerdo a Granfeldt *et al.* (1992), como se muestra en la Ecuación 11:

$$IGp_2 = 8.198 + 0.862 IH_{90} \quad (11)$$

### 3.4.6. DIGESTIBILIDAD DE LA PROTEÍNA *IN VITRO* (DPIV)

Se realizó según el método reportado por Nosworthy *et al.* (2017), con modificaciones. Se preparó 50 mL de suspensión acuosa de la harina de pajuro (equivalente a 6.25 mg proteína ms/mL), se ajustó el pH a 8.0 con NaOH (0.1 N) o HCL (0.1 N), y se colocó en baño maría a 37 °C con agitación; el mismo procedimiento se realizó con la caseína como patrón de

referencia. Simultáneamente se preparó el sistema multienzimático que contenía 50 mg de tripsina de páncreas porcino (tipo IX-S, 13000-20000 und BAEE/mg proteína) y 50 mg de pancreatina de páncreas porcino (8 x USP) disueltos en 25 mL de agua destilada, se reguló el pH a 8 y fue mantenido en refrigeración hasta su uso. A continuación, se añadieron 5 mL de la solución multienzimática a la suspensión de proteínas, el cambio de pH fue medido después de diez minutos contados desde que la mezcla (enzima-sustrato) alcanzó los 37 °C. El porcentaje de la digestibilidad de proteína *in vitro* fue calculada usando la Ecuación 12:

$$\text{Digestibilidad de proteína } in vitro (\%) = 65.66 + (18.13 \times \Delta\text{pH}_{10 \text{ min}}) \quad (12)$$

donde,

$$\Delta\text{pH}_{10 \text{ min}} = (\text{pH inicial de aproximadamente } 8.0) - (\text{pH a los } 10 \text{ min})$$

#### **3.4.7. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DEL INHIBIDOR DE TRIPSINA (AIT)**

Se determinó según lo descrito por Liu (2021) en la metodología de volumen medio AOCS Ba 12a-2020. Para la extracción de los inhibidores, se mezcló 0.5 g de la muestra de harina con 50 mL de NaOH 10 mM en un vaso de precipitado usando un agitador magnético a 100 RPM a temperatura ambiente durante 2 h, el extracto se centrifugó 15 min a 8000 RPM y 8 °C; el sobrenadante pasó por un filtro de jeringa de 0.45 µm y se diluyó hasta 100 mL con agua desionizada fría. Los extractos se almacenaron en congelación hasta su uso. Para el extracto del tratamiento T0 fue necesaria una segunda dilución (FD=20) hasta que la inhibición se encuentre entre 30 – 70 %. El ensayo se realizó en un baño de agua a 37 °C. Se inicio mezclando 1 mL del extracto con 2.5 mL de solución de trabajo BAPNA (0.4 mg/mL precalentado a 37 °C), se preincubó por 10 minutos. Luego se agregó 1 mL de la solución de trabajo tripsina (20 µg/mL) con agitación inmediata, la reacción de color se detuvo a los 10 min de incubación agregando 0.5 mL de solución de ácido acético al 30 % (v/v). El volumen obtenido pasó por un filtro de jeringa de 0.45 µm antes de la lectura de absorbancia a 410 nm ( $A_{410M}$ ) fue una medida la tripsina en presencia de los inhibidores en la muestra. Para una lectura de referencia ( $A_{410R}$ ), se utilizó 1.0 mL de agua en lugar del extracto diluido para trabajar en ausencia de inhibidores. También se prepararon y midieron un blanco de muestra ( $A_{410BM}$ ) y un blanco de referencia ( $A_{410BR}$ ), para ello se añadió la

solución de enzima al final de la reacción. El porcentaje de tripsina inhibida se calcula con la siguiente Ecuación 13:

$$TI (\%) = \frac{(A_{410RC} - A_{410MC})}{A_{410RC}} \quad (13)$$

donde,

% TI: Porcentaje de tripsina inhibida.

$A_{410RC} = (A_{410R} - A_{410BR})$ : lectura de referencia corregida en A410 nm.

$A_{410MC} = (A_{410M} - A_{410BM})$ : lectura de muestra corregida en A410 nm.

$(A_{410RC} - A_{410MC}) / A_{410RC}$  debe estar en el rango de 0.30 a 0.70, es decir, 30 – 70 % de inhibición de tripsina por un extracto de muestra diluido dado.

Luego, la actividad del inhibidor de la tripsina se expresa en mg tripsina inhibida por g muestra en base seca de acuerdo a la Ecuación 14:

$$AIT (\text{mg TI/g}) = \%TI \times \frac{0.02 \text{ mg}}{\text{g muestra}} \times FD \times \frac{AS}{15000} \quad (14)$$

donde,

0.02 mg: Cantidad de tripsina utilizada para el ensayo (1 mL de 20 µg/mL).

AS: Actividad específica de la tripsina utilizada. Se consideró una AS de 16500 und BAEE/mg de proteína.

15000: Actividad específica de una tripsina de referencia que tuviera una AS de 15000 und BAEE/mg de proteína.

### 3.4.8. OBTENCIÓN DE EXTRACTOS FENÓLICOS

Se utilizó el método de Chirinos *et al.* (2013) para extraer la fracción hidrofílica. Brevemente, se pesó 0.5 gramo de harina de semilla de pajuro y se mezcló con 10 mL de metanol al 80% y se dejó reposar por 24 horas a 4 °C en oscuridad. Pasado ese tiempo se centrifugó el extracto a 4000 rpm por 30 minutos a 4 °C, el sobrenadante se pasó por un filtro de jeringa de 0.45 µm, se midió el volumen final recuperado y se almacenó a -30 °C en oscuridad hasta su uso.

### **3.4.9. DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES (CFT)**

Se empleó la metodología de Folin-Ciocalteu propuesta por Singleton & Rossi (1965), para lo cual se hizo reaccionar 500  $\mu\text{L}$  del extracto hidrofílico, 250  $\mu\text{L}$  de reactivo de Folin-Ciocalteu 1 N, 8 mL de agua destilada y 1250  $\mu\text{L}$  de carbonato de sodio al 7.5 %. La mezcla se dejó reposar 30 minutos en oscuridad y se midió la absorbancia a 755 nm frente a un blanco reemplazando el volumen del extracto por agua destilada. Se realizó una curva de calibración de seis puntos con ácido gálico (Anexo 8), el análisis se realizó por triplicado. El contenido de CFT fue expresado en miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra en base seca (mg AGE/g).

### **3.4.10.DETERMINACIÓN DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DPPH**

Para medir el efecto antioxidante del extracto sobre la actividad del radical DPPH $\cdot$  (2,2-Difenil-1-picrilhidracilo), se empleó la metodología descrita por Chirinos *et al.* (2013). Se preparó una solución madre de DPPH 0.6 mM con metanol y se almacenó a -20 °C hasta su uso. Para el análisis, se preparó la solución de trabajo de DPPH diluyendo con metanol hasta alcanzar una absorbancia de  $1.100 \pm 0.002$  a 515 nm. Se tomó 150  $\mu\text{L}$  del extracto hidrofílico, se mezcló con 2.850  $\mu\text{L}$  de la solución de trabajo de DPPH, se mezcló y dejó reaccionar por 30 minutos en oscuridad. Transcurrido el tiempo se midió la absorbancia a 515 nm frente a un blanco reemplazando el volumen del extracto por metanol. La curva de calibración se realizó con trolox (Anexo 9) y la actividad antioxidante se reportó como equivalente trolox  $\mu\text{mol ET/g}$  de muestra en base seca.

### **3.4.11.DETERMINACIÓN DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE ABTS**

Se utilizó el método reportado por Chirinos *et al.* (2013), donde el efecto antioxidante del extracto será medido sobre la actividad del catión radical ABTS $\cdot^+$  (ácido 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico). La solución madre ABTS incluía la solución de ABTS 7.2 mM y la solución de persulfato de potasio 2.45 mM, ambos disueltos en agua desionizada. La mezcla reposó en oscuridad a temperatura ambiente durante 12 h antes de su uso. Luego, se preparó la solución de trabajo ABTS diluyendo la solución madre con metanol (1:60, v/v) hasta alcanzar una absorbancia de  $1.100 \pm 0.002$  a 734 nm. Para la medición de la actividad

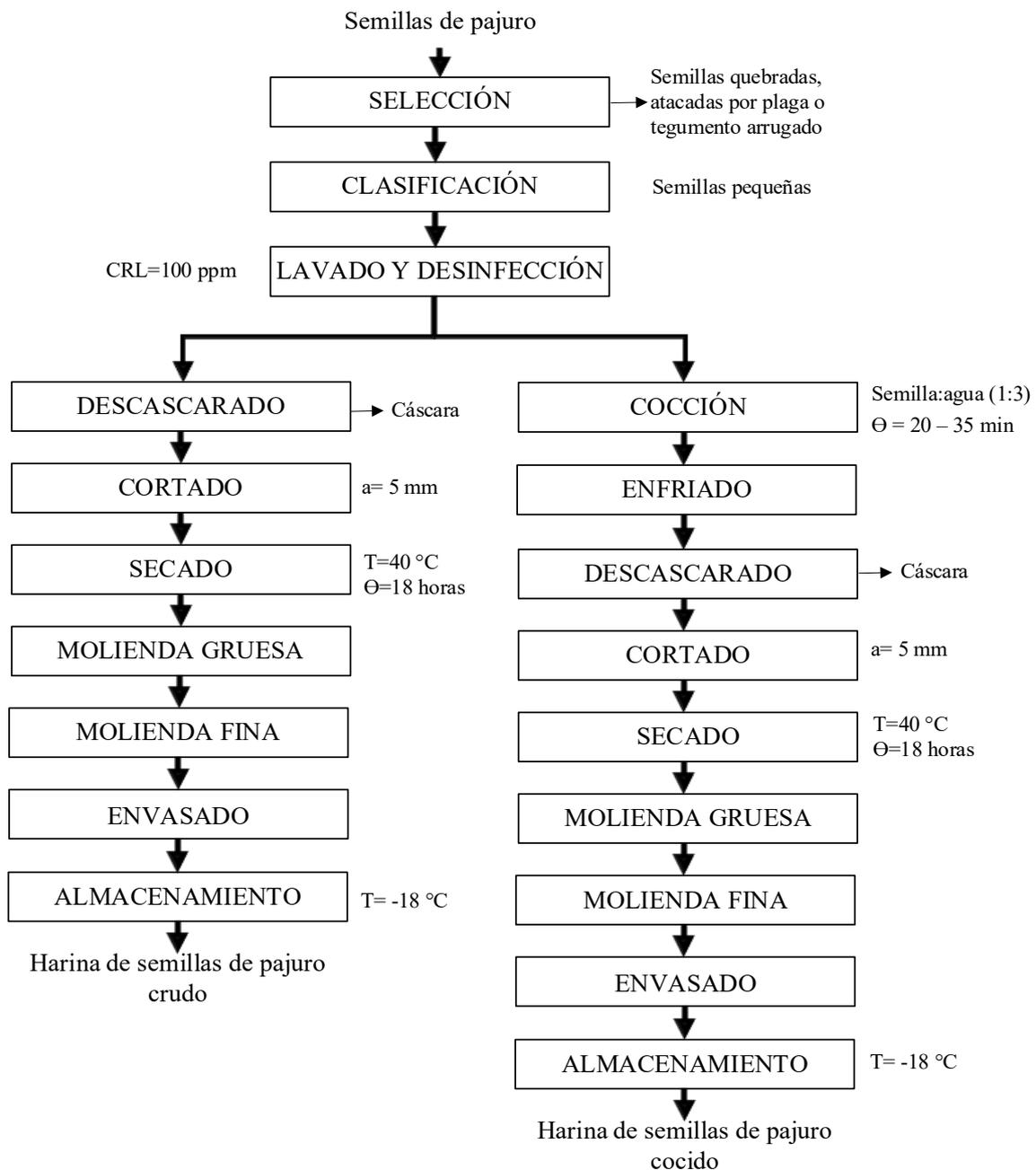
antioxidante se tomó 150  $\mu\text{L}$  de extracto hidrofílico (FD=6) y se mezcló con 2850  $\mu\text{L}$  de la solución de trabajo ABTS, después de 2.5 horas de reacción en oscuridad, tiempo requerido para que la lectura fuera constante, se midió la absorbancia a 734 nm frente a un blanco reemplazando el volumen del extracto por metanol. Además, el espectrofotómetro se puso en blanco con metanol. Para la curva estándar se utilizó trolox con seis puntos (Anexo 10), los resultados se expresaron en equivalente trolox como  $\mu\text{mol ET/g}$  en base seca.

### 3.5. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

A continuación, se describen las operaciones unitarias para la obtención de las harinas de semillas de pajuro crudo y cocido (Figura 13).

- Selección: Se separó de forma manual toda materia prima que presente signos de deterioro o daño visible, tanto físico como microbiológico.
- Clasificación: Se verificó el estado fisiológico de las semillas de pajuro, clasificándose las semillas maduras (marrón oscuro) y de mayor tamaño, manualmente a fin de obtener una cocción homogénea.
- Lavado y desinfectado: El lavado se realizó con la finalidad de retirar cualquier tipo de materia extraña que pudiera estar presente en las semillas. Para tal efecto se empleó agua potable fría y se utilizó una solución de hipoclorito de sodio 100 ppm (CLR).
- Cocción: Se llevó a cabo empleándose el método tradicional a presión atmosférica, empleándose una cocina eléctrica industrial y una olla de acero inoxidable, se trabajó con una relación de semillas-agua de 1:3 a temperatura de ebullición y cuatro tiempos (20, 25, 30 y 35 min).
- Enfriado: Se escurrieron las semillas recién cocidas y se sumergieron en dos baños de agua a temperatura ambiente por 30 segundos cada uno para detener la cocción.
- Descascarado: Se realizó manualmente con cuchillos, a fin de retirar la cáscara y separarla del cotiledón.
- Cortado: Se realizó con cuchillos para reducir el tamaño de las semillas a partículas más pequeñas de 5 mm aproximadamente a fin de aumentar el área superficial.
- Secado: Las semillas cortadas se llevaron a un secador de bandejas, siendo sometidas a una temperatura de 40 °C por un tiempo de 16 horas.

- Molienda gruesa: Las semillas secas se redujeron de tamaño mediante el uso de un molino de rotor y un tamiz anular de abertura 3.0 P/SR300, con la finalidad de evitar recalentamiento en el equipo.
- Molienda fina: Debido a la dureza de la semilla se molió nuevamente con el molino de rotor y un tamiz anular de abertura 0.20 P/SR300 para obtener la harina uniforme.
- Envasado: La harina se envasó en bolsas bilaminadas con cierre hermético.
- Almacenamiento: Se almacenaron a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta su posterior análisis.

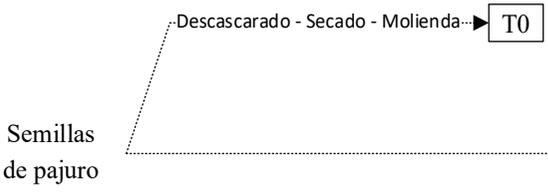
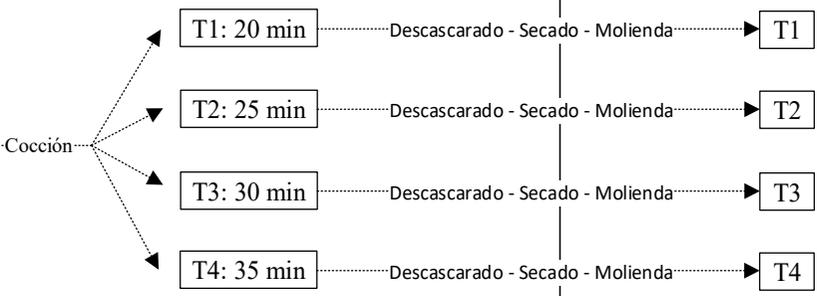


**Figura 13: Flujo de operaciones para la obtención de harina de semillas de pajuro crudo y cocido**

### **3.6. DISEÑO EXPERIMENTAL**

El experimento fue planteado en tres etapas (Tabla 7). En la etapa 1 se realizó la caracterización física de las semillas de pajuro y la caracterización química de la harina obtenida de la semilla cruda sin cáscara (T0). En la etapa 2 se determinaron las características para la calidad de cocción donde la variable independiente fue el tiempo de cocción (20, 25, 30 y 35 minutos) y las variables respuestas fueron la pérdida de sólidos hacia el agua de cocción, conductividad en el agua de cocción y firmeza estimado por dureza de semillas cocidas. Por último, en la etapa 3 se realizó la caracterización química de las harinas de semillas cocidas, mediante análisis químico proximal, almidón total, digestibilidad del almidón *in vitro*, índice glucémico predicho, digestibilidad de la proteína *in vitro*, actividad del inhibidor de tripsina, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante DPPH y ABTS.

**Tabla 7: Diseño experimental para caracterización de semillas de pajuro**

ETAPA	Etapa I CARACTERIZACIÓN FÍSICA Y QUÍMICA SEMILLA CRUDA		Etapa II CALIDAD DE COCCIÓN	Etapa III CARACTERIZACIÓN QUÍMICA SEMILLAS COCIDAS
MATERIA PRIMA				
ANÁLISIS	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Forma, dimensión y peso de 100 semillas</li> <li>▪ Color de tegumento y cotiledón</li> <li>▪ Humedad</li> <li>▪ Porcentaje de tegumento y cotiledón</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Análisis químico proximal</li> <li>▪ Almidón total</li> <li>▪ Digestibilidad del almidón <i>in vitro</i></li> <li>▪ Índice glucémico predicho</li> <li>▪ Digestibilidad de proteína <i>in vitro</i></li> <li>▪ Actividad del Inhibidor de Tripsina</li> <li>▪ Compuestos fenólicos totales</li> <li>▪ Capacidad antioxidante DPPH y ABTS</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Pérdida de sólidos hacia el agua de cocción</li> <li>▪ Conductividad del agua de cocción</li> <li>▪ Firmeza estimada por dureza de semillas cocidas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Análisis químico proximal</li> <li>▪ Almidón total</li> <li>▪ Digestibilidad del almidón <i>in vitro</i></li> <li>▪ Índice glucémico predicho</li> <li>▪ Digestibilidad de proteína <i>in vitro</i></li> <li>▪ Actividad del Inhibidor de Tripsina</li> <li>▪ Compuestos fenólicos totales</li> <li>▪ Capacidad antioxidante DPPH y ABTS</li> </ul>

T0: Harina de pajuro crudo

T1: Harina de pajuro cocido 20 min

T2: Harina de pajuro cocido 25 min

T3: Harina de pajuro cocido 30 min

T4: Harina de pajuro cocido 35 min

### 3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados se expresaron como promedio  $\pm$  desviación estándar (DS). Se empleó un diseño completamente al azar (DCA), donde los resultados fueron analizados a través de un análisis de varianza (ANOVA) trabajando con un nivel de significancia de 5 % ( $\alpha = 0.05$ ); para los factores significativos se realizó la prueba múltiple rangos de Tukey para determinar diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los niveles del factor. Para ello se empleó el programa estadístico Statgraphics 18 (ver Anexos 11 al 25).

Los análisis de calidad de cocción y caracterización química de las muestras semillas cocidas se correlacionaron como matriz mediante la correlación de dos colas de Pearson. Se consideró significancia estilo APA con  $p < 0.001$  (fuerte),  $p < 0.002$  (moderada) y  $p < 0.033$  (débil) empleando el software GraphPad Prism versión 8.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. CARACTERIZACIÓN FÍSICA DE LAS SEMILLAS DE PAJURO

La Tabla 8 corresponde a las características físicas analizadas en las semillas de pajuro crudas.

**Tabla 8: Características físicas de la semilla de pajuro cruda**

Mediciones	Valores
Dimensión de las semillas <sup>1</sup>	
Largo (cm)	3.89 ± 0.23
Ancho (cm)	2.46 ± 0.11
Espesor (cm)	1.65 ± 0.10
Peso de 100 semillas (g) <sup>2</sup>	448.59 ± 16.24
Peso de cáscara (%) <sup>2</sup>	8.76 ± 0.55
Peso de cotiledón (%) <sup>2</sup>	91.24 ± 1.01
Humedad de la semilla sin cáscara (%) <sup>2</sup>	59.65 ± 0.39
Color del tegumento <sup>3</sup>	
L*	29.12 ± 1.94
a*	6.50 ± 1.42
b*	5.77 ± 2.57
h°	39.70 ± 8.19
Color del cotiledón <sup>3</sup>	
L*	78.61 ± 1.88
a*	-6.46 ± 0.62
b*	19.11 ± 2.48
h°	108.82 ± 1.76

Resultados expresados como el promedio ± DS (<sup>1</sup>n=30; <sup>2</sup>n=3; <sup>3</sup>n=20).

#### **4.1.1. FORMA, DIMENSIÓN Y PESO DE 100 SEMILLAS**

Las semillas de pajuro analizadas presentaron forma elipsoidal y arriñonada, siendo sus dimensiones una representación cuantitativa de ello. De acuerdo con Araujo (2005), las semillas de pajuro presentan formas ovaladas; asimismo, fueron semejantes a las formas ovoide y reniforme, determinadas por la FAO (2016) e IPGRI (2001) en frijol común.

Respecto a las dimensiones, los resultados son similares a los valores reportados en pajuro que van de 3 – 6 cm de largo , 1.7 – 3.4 cm de ancho y 1.4 – 2.8 cm de espesor (Acero, 2002; D'Amore, 2017; Delgado-Soriano *et al.*, 2020; Mejía *et al.*, 1993). Además, conforme a la clasificación para el tamaño de las semillas de pajuro propuesta por Mejía *et al.* (1993), las semillas analizadas se pueden considerar medianas. Sin embargo, su tamaño sigue siendo superior a las legumbres de consumo común como el garbanzo (1.03, 0.85 y 0.67 cm de largo, ancho y espesor, respectivamente), frijol canario (1.33, 0.80 y 0.71 cm de largo, ancho y espesor, respectivamente) y Haba INIA 423 – haba blanca gigante Yunguyo (3.45 cm de largo) (Bhattacharya & Malleshi, 2012; INIA, 2010; Magallanes, 2021).

Asimismo, su gran tamaño se vio evidenciado en la determinación del peso de 100 semillas, para el que se obtuvo un valor de 448.59 g, cabe mencionar que para este análisis las semillas tuvieron una humedad de 13 – 14 %. En comparación con otras legumbres, las semillas de pajuro superaron ocho veces el peso del Frijol Canario Camanejo (51 – 60 g), seis veces el peso del frijol rojo (72 – 80 g) y tres veces el peso de las habas rojas (120 – 186 g) (Estación Experimental Agraria, Andenes - Cusco, 2004, 2014; Estación Experimental Agraria, Santa Rita - Arequipa, 2014; Zhong *et al.*, 2018). Esto refleja su superioridad en peso y tamaño frente a una amplia variabilidad entre las distintas leguminosas.

#### **4.1.2. COLOR DE TEGUMENTO Y COTILEDÓN**

El color del tegumento y cotiledón se analizó con las coordenadas del espacio de color CIELAB. Los parámetros a\* y b\* fueron 6.50 y 5.77, respectivamente. Además, el ángulo de tono h° que representa el atributo cualitativo según el cual los colores se pueden definir como, rojo (0°) y amarillo (90°), fue para el tegumento 39.70°, por lo que su tonalidad se

pueden describir entre rojo y ligeramente amarillo con una luminosidad ( $L^*$ ) baja de 29.12, lo que corresponde al color oscuro del tegumento de la semilla de pajuro. Al respecto, Araujo (2005) y Delgado-Soriano *et al.* (2020) sostienen que un color marrón oscuro y guinda de las semillas de pajuro son indicadores de madurez. Por su parte, el cotiledón presentó parámetros  $a^*$  y  $b^*$  de -6.46 y 19.11, respectivamente y el valor de  $h^\circ$  fue  $108.82^\circ$ , es decir, su color tiende a amarillo ( $90^\circ$ ) y ligeramente verde ( $180^\circ$ ) con una alta luminosidad (78.61).

Según Zhong *et al.* (2018), el color de las semillas de legumbres es un indicador de calidad importante para la aceptación del consumidor; además, menciona que la pigmentación del tegumento puede deberse principalmente a los polifenoles y la clorofila. Asimismo, De Cillis *et al.* (2019) asocia la maduración con el cambio color de semillas de verde a otros colores, ya que la clorofila se descompone y otros pigmentos se acumulan.

#### **4.1.3. PORCENTAJE DE TEGUMENTO Y COTILEDÓN**

La cuantificación de las partes de la semilla de pajuro resultó 8.76 % de tegumento y 91.24 % de cotiledón. Al respecto, la proporción reportada para pajuro proveniente de Cajamarca (10.8 % cáscara y 89.2 % cotiledón) y Oxapampa (17.6 % cáscara y 82.4 cotiledón) representan valores cercanos (Delgado-Soriano *et al.*, 2020; Espinoza, 2018). De forma similar Caiza (2011) reportó que la semilla de tarwi tiene 10.74 % de cáscara, 84.66 % de cotiledón y 4.61 % de germen. Asimismo, Wani *et al.* (2017) indicó que en cuatro variedades de frijol el porcentaje de cáscara fue de 9.3 – 9.7 %. Por su parte, Zhong *et al.* (2018), menciona que los porcentajes característicos en las leguminosas son 8 – 16 % de tegumento, 80 – 90% de cotiledón y 1 – 3 % de embrión. Por lo tanto, los porcentajes obtenidos coinciden con los característicos en leguminosas.

#### **4.1.4. HUMEDAD DE LA SEMILLA**

El contenido de humedad de la semilla sin cáscara fue 59.65 %, lo cual es cercano a lo mencionado por Delgado-Soriano *et al.* (2020) con 66 %. Valores similares se repontan en semillas de grano verde de frijol caupí (58.32 – 60.66 %) (Melo *et al.*, 2017). Según la FAO (1985), el contenido de humedad como indicador de madurez en leguminosas determina el momento de la cosecha, así las semillas con un porcentaje de humedad aproximadamente

del 50 % están en madurez lechosa y entre 30 – 40 % se encuentran en su madurez fisiológica. Al respecto, Melo *et al.* (2017) menciona que los granos lechosos o fresco son llamados así por estar cerca de la etapa de maduración fisiológica, presentan alrededor del 60 al 70 % de humedad, es decir, es la etapa en la que dejan de acumular fotosintatos, comienza el proceso de deshidratación natural y es fácil de reconocer, ya que comienza el cambio de color característico de la variedad. En consecuencia, las semillas de pajuro analizadas podrían encontrarse en estado de madurez lechosa o como semilla fresca.

#### 4.2. CALIDAD DE COCCIÓN

Se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre todos los tratamientos con respecto a la pérdida de sólidos hacia el agua de cocción, conductividad en el agua de cocción y firmeza de las semillas cocidas (Tabla 9).

**Tabla 9: Características de la calidad de cocción de la semilla de pajuro**

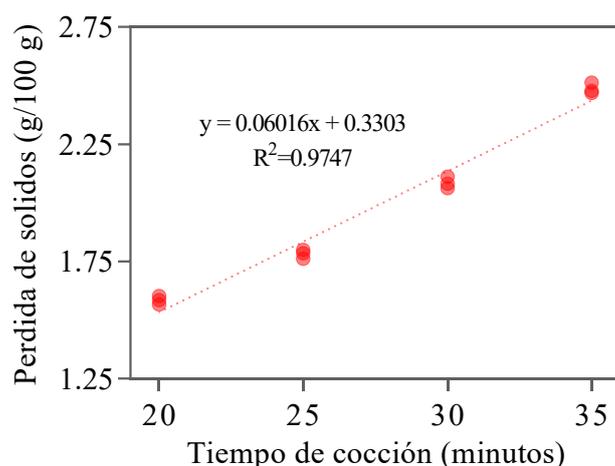
Tratamiento	Pérdida de sólidos <sup>1</sup> (mg/100g)	Conductividad del agua de cocción <sup>1</sup> ( $\mu$ S/cm)	Firmeza <sup>2</sup> (N/g)
T1 (20 min)	1.59 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	2772.67 $\pm$ 49.33 <sup>a</sup>	13.64 $\pm$ 1.02 <sup>a</sup>
T2 (25 min)	1.78 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	4354.03 $\pm$ 49.66 <sup>b</sup>	8.99 $\pm$ 0.77 <sup>b</sup>
T3 (30 min)	2.09 $\pm$ 0.03 <sup>c</sup>	6086.54 $\pm$ 115.38 <sup>c</sup>	7.32 $\pm$ 0.28 <sup>c</sup>
T4 (35 min)	2.49 $\pm$ 0.02 <sup>d</sup>	8967.39 $\pm$ 86.27 <sup>d</sup>	6.18 $\pm$ 0.47 <sup>d</sup>

Resultados expresados como el promedio  $\pm$  DS (<sup>1</sup>n=3; <sup>2</sup>n=6).

Letras diferentes por columna indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ).

Se observó una correlación positiva fuerte entre la pérdida de sólidos hacia el agua de cocción y el tiempo de cocción ( $r = 0.99$ ,  $p < 0.001$ ). Además, se determinó un coeficiente de determinación bueno, lo que sugiere que el 97.47 % de la variabilidad de la pérdida de sólidos puede ser explicada por el tiempo de cocción (Figura 14). Los valores obtenidos en las semillas frescas de pajuro para los tiempos T1, T2 y T3, se encontraron por debajo de los reportado en granos secos como las habas, lentejas y arvejas cuya pérdida de sólidos fue 2.2 – 2.5, 3.2 – 3.3 y 3.0 – 3.4 %, respectivamente (Abdel-Aal *et al.*, 2019). Únicamente la

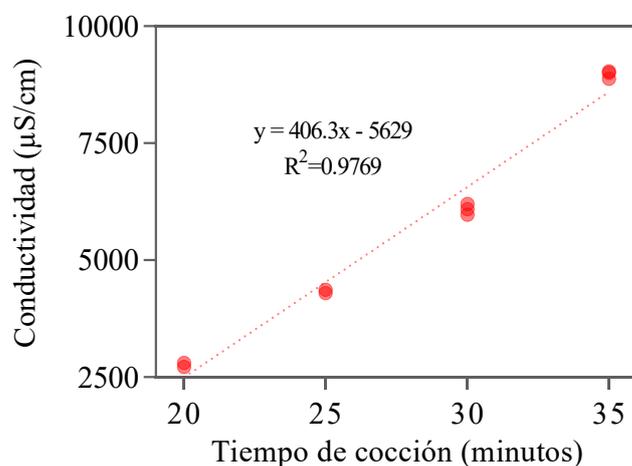
cocción por 35 min (T4) fue similar a lo reportado en habas, pero menor para lentejas y arvejas. Según Wani *et al.* (2017), la pérdida de sólidos en algunas variedades de frijol cocidas sin remojo por periodos prolongados (68 a 86 minutos), fue de 13 – 15 %. Por lo tanto, se espera que por tratarse de semillas de pajuro frescas la lixiviación de sólidos hacia el agua de cocción debe ser menor a lo obtenido para granos secos que requieren largos tiempos de cocción.



**Figura 14: Modelo lineal de correlación entre pérdida de sólidos hacia el agua de cocción y tiempo de cocción**

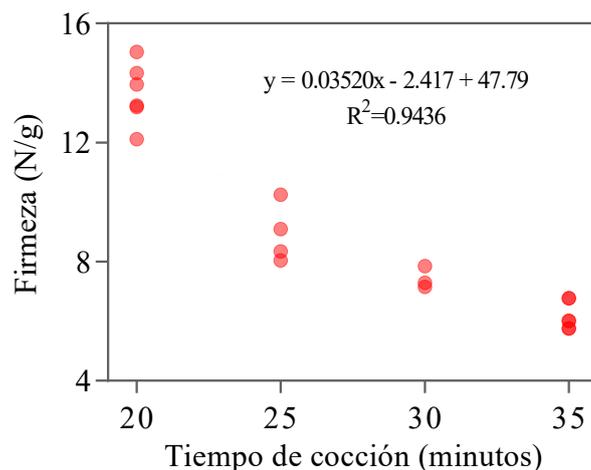
El mismo comportamiento de correlación se vio entre la conductividad del agua de cocción y el tiempo de cocción ( $r = 0.99$ ,  $p < 0.001$ ). Asimismo, el coeficiente de determinación fue bueno, dado que sugiere que el 97.69 % de la variabilidad en la conductividad del agua de cocción puede ser explicada por el tiempo de cocción (Figura 15). Los resultados de conductividad en el agua de cocción de las semillas de pajuro se encontraron muy por encima de lo reportado en el agua de remojo de frijol común y frijol chivata (1378  $\mu\text{S}/\text{cm}$  y 583  $\mu\text{S}/\text{cm}$ , respectivamente) (Mujica *et al.*, 2011), mientras que en habas fue 827  $\mu\text{S}/\text{cm}$  (Nasar-Abbas *et al.*, 2008). Si bien, esta característica es comúnmente medida en el agua de remojo de legumbres secas que requieren de este tratamiento previo a la cocción y es tomado como un parámetro de calidad, en esta investigación las semilla por ser fresca no requirieron de remojo; sin embargo, cabe resaltar que se encontró que la conductividad medida en el agua de cocción se correlacionó perfectamente con la pérdida de sólidos hacia el agua de cocción

( $r = 1$ ,  $p < 0.001$ ) y presentó una correlación alta con la firmeza ( $r = -0.88$ ,  $p < 0.001$ ). Por lo tanto, la conductividad del agua de cocción podría resultar importante como predictor de la calidad de cocción debido a su práctica medición.



**Figura 15: Modelo lineal de correlación entre conductividad del agua de cocción y tiempo de cocción**

Respecto a la correlación entre la firmeza y el tiempo de cocción se tuvo el valor de  $r = -0.92$  ( $p < 0.001$ ), mostrándose una relación negativa fuerte entre las variables. Mientras que el coeficiente de determinación explicó que el 94.36 % de la variabilidad de la firmeza puede ser explicado por el tiempo de cocción (Figura 16). Los resultados de firmeza obtenidos en N/g de semilla de pajuro cocida para los tratamientos T2, T3 y T4 fueron mayores a lo reportado por Magallanes (2021) en frijol canario 2000 (0.91 – 4.51 N/g) y frijol INIA 404 (1.74 – 6.87 N/g), pero la firmeza de la variedad frijol INIA 439 de Huaral (8.07 N/g) se encontró entre tratamientos T3 y T4. Cabe mencionar que la firmeza se midió en medio cotiledón sin cáscara debido al gran tamaño de la semilla de pajuro y a la dureza de su cáscara, factores que dificultaban la penetración de las cuchillas de la celda miniKramer. Este factor podría influir en los resultados en comparación con otros autores que realizan la medición de la firmeza en la semilla entera y con cáscara; tal es el caso de granos cocidas en una cocina automática Mattson como el garbanzo (21.1 – 32.8 N/g), lenteja (14.2 – 18.3 N/g), frijol blanco (16.4 – 26.7 N/g) y frijol pinto (19.1 – 28.7 N/g) cuya firmeza resultó superior en todos los casos (N. Wang *et al.*, 2012).



**Figura 16: Modelo polinomial de correlación entre firmeza y tiempo de cocción**

### 4.3. CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE LAS SEMILLAS DE PAJURO

En la Tabla 10 se presenta el análisis de correlación de Pearson de la caracterización química y los factores de calidad de cocción estudiadas en las semillas de pajuco cocidas. En ella se puede observar que el tiempo de cocción se relacionó significativamente con la mayoría de características químicas, a excepción del contenido de proteína, extracto etéreo y las capacidades antioxidantes. Asimismo, la firmeza de las semillas cocidas fue la característica de calidad de cocción que se correlacionó con un mayor número de las características químicas. Posteriormente se presenta el análisis del efecto del tiempo de cocción en cada característica.

#### 4.3.1. ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL Y ALMIDÓN TOTAL

En la Tabla 11 se presenta la composición química de la semilla de pajuco sin cáscara (cruda y cocida); se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en la concentración de los nutrientes analizados a excepción del extracto etéreo, siendo para todos los casos menor al uno por ciento.

**Tabla 10: Matriz de correlación entre las características de calidad de cocción y las características químicas de las semillas de pajuro cocidas**

	Tiempo	Firmeza	Conduct.	PS	CT	Proteínas	EE	Fibra	Ceniza	AT	IGp	DPIV	AIT	CFT	DPPH
Firmeza	-0.92***	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
Conductividad	0.99***	-0.88***	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
PS	0.99***	-0.87***	1.00***	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
CT	0.91***	-0.76**	0.95***	0.94***	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
Proteína	-0.32	0.51	-0.24	-0.21	-0.29	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
EE	-0.14	-0.06	-0.17	-0.22	-0.08	-0.81**	...	...	...	...	...	...	...	...	...
Fibra	0.69*	-0.71**	0.67*	0.65*	0.60*	-0.45	0.26	...	...	...	...	...	...	...	...
Ceniza	-0.86***	0.66*	-0.92***	-0.92***	-0.98***	0.10	0.20	-0.54	...	...	...	...	...	...	...
AT	-0.68*	0.80**	-0.61*	-0.60*	-0.48	0.45	-0.08	-0.24	0.38	...	...	...	...	...	...
IGp	0.87***	-0.64*	0.93***	0.93***	0.95***	0.01	-0.34	0.51	-0.98***	-0.35	...	...	...	...	...
DPIV	0.88***	-0.77**	0.90***	0.90***	0.84***	-0.16	-0.11	0.71*	-0.84***	-0.47	0.85***	...	...	...	...
AIT	-0.93***	0.97***	-0.88***	-0.87***	-0.75**	0.44	0.02	-0.73**	0.66*	0.76**	-0.65*	-0.73**	...	...	...
CFT	-0.59*	0.74**	-0.57	-0.52	-0.59*	0.71*	-0.53	-0.61*	0.48	0.58*	-0.36	-0.44	0.67*	...	...
DPPH	-0.37	0.56	-0.35	-0.31	-0.36	0.57	-0.42	-0.44	0.27	0.40	-0.16	-0.19	0.52	0.88***	...
ABTS	-0.56	0.77**	-0.50	-0.48	-0.46	0.78**	-0.50	-0.48	0.32	0.73**	-0.22	-0.36	0.70*	0.92***	0.85***

PS: Pérdida de sólidos. CT: Carbohidratos totales. EE: Extracto etéreo. AT: Almidón total. IGp: Índice glucémico predico. DPIV: Digestibilidad de la proteína *in vitro*. AIT: Actividad del Inhibidor de Tripsina. CFT: Compuestos fenólicos totales. DPPH: Capacidad antioxidante por DPPH. ABTS: Capacidad antioxidante por ABTS. Significancia: \*\*\* p<0.001 (fuerte); \*\* p<0.002 (moderada) y \* p<0.033 (débil).

**Tabla 11: Composición química de la semilla de pajuro en base seca**

<b>Tratamiento</b>	<b>Energía (kcal)</b>	<b>Carbohidratos (%)</b>	<b>Proteína<sup>1</sup> (%)</b>	<b>Ceniza (%)</b>	<b>Fibra (%)</b>	<b>Extracto Etéreo (%)</b>	<b>Almidón Total (%)</b>
T0 (crudo)	377.20 ± 0.73 <sup>a</sup>	72.20 ± 0.31 <sup>a</sup>	21.15 ± 0.19 <sup>ab</sup>	6.23 ± 0.02 <sup>a</sup>	2.77 ± 0.18 <sup>a</sup>	0.42 ± 0.19 <sup>a</sup>	40.61 ± 1.67 <sup>a</sup>
T1 (20 min)	377.67 ± 1.13 <sup>ab</sup>	72.62 ± 0.17 <sup>ab</sup>	21.26 ± 0.19 <sup>b</sup>	5.88 ± 0.16 <sup>b</sup>	3.07 ± 0.11 <sup>ab</sup>	0.24 ± 0.19 <sup>a</sup>	35.85 ± 0.24 <sup>b</sup>
T2 (25 min)	379.21 ± 0.49 <sup>b</sup>	73.04 ± 0.13 <sup>bc</sup>	20.74 ± 0.19 <sup>a</sup>	5.77 ± 0.03 <sup>bc</sup>	3.40 ± 0.53 <sup>b</sup>	0.46 ± 0.12 <sup>a</sup>	31.91 ± 2.56 <sup>bc</sup>
T3 (30 min)	378.89 ± 0.04 <sup>ab</sup>	73.21 ± 0.19 <sup>c</sup>	20.94 ± 0.19 <sup>ab</sup>	5.60 ± 0.00 <sup>c</sup>	3.50 ± 0.40 <sup>b</sup>	0.25 ± 0.01 <sup>a</sup>	31.43 ± 0.70 <sup>c</sup>
T4 (35 min)	384.25 ± 0.09 <sup>c</sup>	74.51 ± 0.08 <sup>d</sup>	20.97 ± 0.19 <sup>ab</sup>	4.26 ± 0.15 <sup>d</sup>	3.62 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.26 ± 0.09 <sup>a</sup>	31.67 ± 0.47 <sup>c</sup>

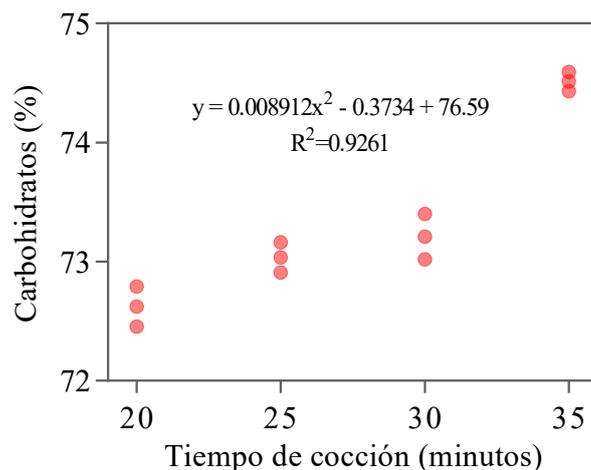
Resultados expresados como el promedio ± DS (n=3).

Letras diferentes por columna indica diferencia significativa (p<0.05).

<sup>1</sup>Nx6.25.

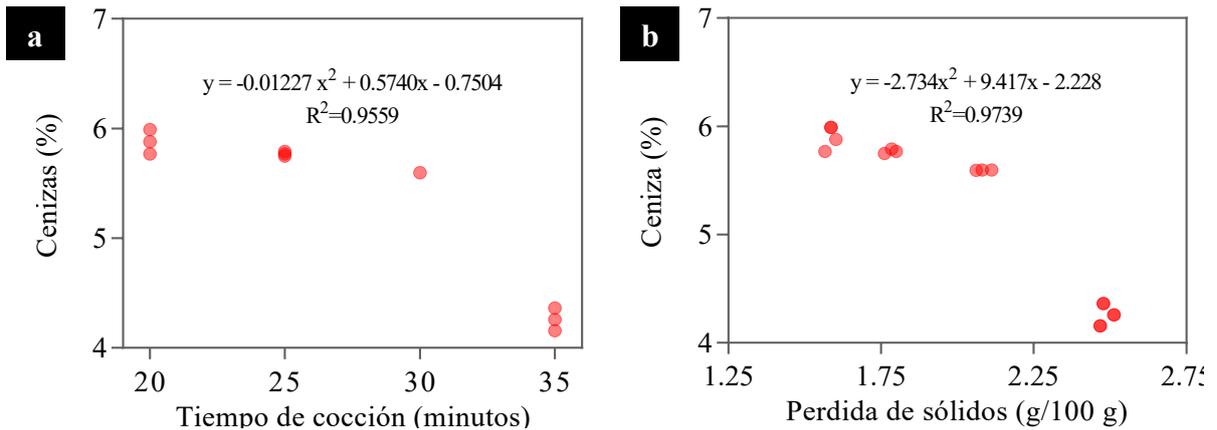
En investigaciones previas, las semillas de pajuro crudas reportaron valores de proteína que van de 18 a 20 %, extracto etéreo de 0.5 a 0.9 %, fibra de 4.8 a 7.5 %, ceniza de 4.9 a 6.9 % y carbohidratos de 68 a 75 % (Barrera & Mejía, 1998; Delgado-Soriano *et al.*, 2022; Escamilo, 2015; G. Pérez *et al.*, 1979; O. Pérez, 2011). Por otro lado, Espinoza (2018) analizó semillas de pajuro de Oxapampa cocidas sin cáscara por 20 minutos y obtuvo 17.13 % de proteína, 0.89 % de extracto etéreo, 6.25 % de fibra, 5.84 % de ceniza y 76.14 % de carbohidratos. Asimismo, Delgado-Soriano *et al.* (2022) analizaron semillas de pajuro de Cajamarca cocidas con cáscara por 30 minutos que contenían 20.58 % de proteína, 0.47 % de extracto etéreo, 2.83 % de fibra, 4.51 % de ceniza y 74.44 % de carbohidratos. Además, Vargas (2016) que también trabajo con pajuro de Cajamarca cocidas con cáscara por 30 minutos obtuvo 22.8 % de proteína, 1.52 % de extracto etéreo, 0.94 % de fibra, 2.90 % de ceniza y 72.78 % de carbohidratos. Respecto al contenido de almidón de la semilla cruda de pajuro sin cáscara (T0) fue de 40.61 %, valor que coincidió a lo reportado por Triviño & Rodríguez (1994) para semilla de pajuro cruda cultivada en Colombia que contiene 39.1 % de almidón. Por lo tanto, los valores determinados en la presente investigación son cercanos a lo informado por otros autores tanto para las semillas crudas como cocidas.

Las semillas de pajuro después del proceso de cocción con cuatro tiempos, mostraron un aumento de carbohidratos del 0.6, 1.2, 1.4 y 3.2 % para T1, T2, T3 y T4, respectivamente; además se presentó una correlación positiva fuerte entre el contenido de carbohidratos y el tiempo de cocción ( $r=0.91$ ,  $p<0.001$ ). Asimismo, se obtuvo un coeficiente de determinación que sugiere que el 92.61 % de variabilidad del contenido de carbohidratos es explicado por el tiempo de cocción (Figura 17). Dicha tendencia coincide con lo reportado por Soaud *et al.* (2021) que obtuvieron un alto contenido de sustancias no proteicas (carbohidratos totales, lípidos y vitaminas), en semillas de caupí verde, tras la cocción. Contrario a lo esperado, los carbohidratos totales se correlacionaron positivamente con la pérdida de sólidos ( $r = 0.94$ ,  $p<0.001$ ). Según Wani *et al.* (2017) luego de la cocción de legumbres se obtiene una correlación negativa con el contenido de carbohidratos ( $r = -0.873$ ). Asimismo, Piecyk *et al.* (2019) mencionan que los componentes, como la sacarosa, los oligosacáridos o la fibra dietética soluble pueden migrar al agua de cocción. Por lo tanto, es posible que el aumento del contenido de carbohidratos sea resultado de la pérdida otros componentes en la materia seca, lo que se confirma por la disminución del contenido de cenizas y almidón.



**Figura 17: Modelo polinomial de correlación entre carbohidratos y tiempo de cocción**

Considerando el contenido de ceniza en las semillas de pajuro, se evidenció una tendencia inversa con respecto al contenido de carbohidrato, se observó una reducción del 5.6, 7.3, 10.1 y 31.6 % de cenizas en T1, T2, T3 y T4, respectivamente; además se confirmó con una correlación negativa fuerte entre el contenido de cenizas y el tiempo de cocción ( $r = -0.86$ ,  $p < 0.001$ ). Además, se obtuvo un coeficiente de determinación alto, sugiriendo que la variabilidad de 95.59 % en contenido de cenizas es explicado por el tiempo de cocción (Figura 18.a). Al respecto, un comportamiento similar se reporta en granos de caupí verde y frijol común después de la cocción, dicha reducción se atribuye a la pérdida de minerales por difusión en el agua utilizada en el tratamiento térmico (Melo *et al.*, 2017; Soaud *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2017). Esto último se evidenció con una correlación negativa fuerte entre el contenido de cenizas y la pérdida de sólidos, y el contenido de ceniza con conductividad del agua de cocción, donde ambas relaciones presentaron una correlación fuerte ( $r = -0.92$ ,  $p < 0.001$ ) y la variabilidad del 97.39 % en contenido de cenizas es explicado por la pérdida de sólidos (Figura 18.b). Respecto a la relación del contenido de ceniza con la firmeza ( $r = -0.66$ ,  $p < 0.033$ ); Sánchez-Arteaga *et al.* (2015) y Shimelis & Rakshit, (2005) relacionaron la dureza y el tiempo de cocción de frijoles comunes cocidos con la concentración de calcio, encontrando cantidades de calcio mucho mayores en frijoles con valores más altos de tiempo de cocción. Esto se debe a que la presencia de minerales divalentes como el calcio (Ca) y el magnesio (Mg) en las legumbres pueden reticular biopolímeros como la pectina, lo que retarda la absorción de agua y aumenta la firmeza de los frijoles (Abdel-Aal *et al.*, 2019).



**Figura 18: a) Modelo polinomial de correlación entre ceniza y tiempo de cocción. b) Modelo polinomial de correlación entre ceniza y pérdida de sólidos**

El contenido de carbohidratos y cenizas en la semilla de pajuro cruda sin cáscara (T0) es ligeramente mayor que el de leguminosas comercializadas en Perú según lo reportado por Reyes García *et al.* (2017) en las tablas peruanas de composición de alimentos, entre ellas se tiene a las de arveja fresca sin vaina, frejol canario fresco (frejol verde), habas frescas sin cáscara y sin vaina y pulpa fresca de gigante rojo, que se encuentran entre 58 – 71 % de carbohidratos y 3 – 4 % de cenizas; por el contrario, el contenido de proteína y grasa fue menor a las leguminosas mencionadas que reportaron 23 – 37 % y 1 – 2 %, respectivamente.

Asimismo, los carbohidratos de los tratamientos cocidos (20 a 35 minutos) fue mayor a otras leguminosas comerciales cocidas como frejol canario, habas secas sin cáscara, pallar con cáscara, frejol panamito y frejol castilla cuyos valores van de 63 – 69 %, pero menor al contenido de proteína y grasa, 23 – 28 % y 2 – 5 %, respectivamente (Reyes García *et al.*, 2017). Sin embargo, su aporte energético por el valor de proteína que tiene, bajo la regulación de la Unión Europea se puede clasificar a las semillas de pajuro como “excelente fuente de proteínas” (Delgado-Soriano *et al.*, 2022).

La relación entre el contenido de fibra y almidón con el tiempo de cocción, fue débil con valores de  $r = 0.69$  y  $r = -0.68$  ( $p < 0.033$ ), respectivamente. Esto coincide con lo reportado por Soaud *et al.* (2021) en semillas de caupí verde que presentaron contenidos de fibra casi similares antes y después del proceso de cocción. Por su parte, Chinedum *et al.* (2018)

reporta un comportamiento similar en el contenido de almidón total, dado que la cocción de los frijoles no la afectaron significativamente.

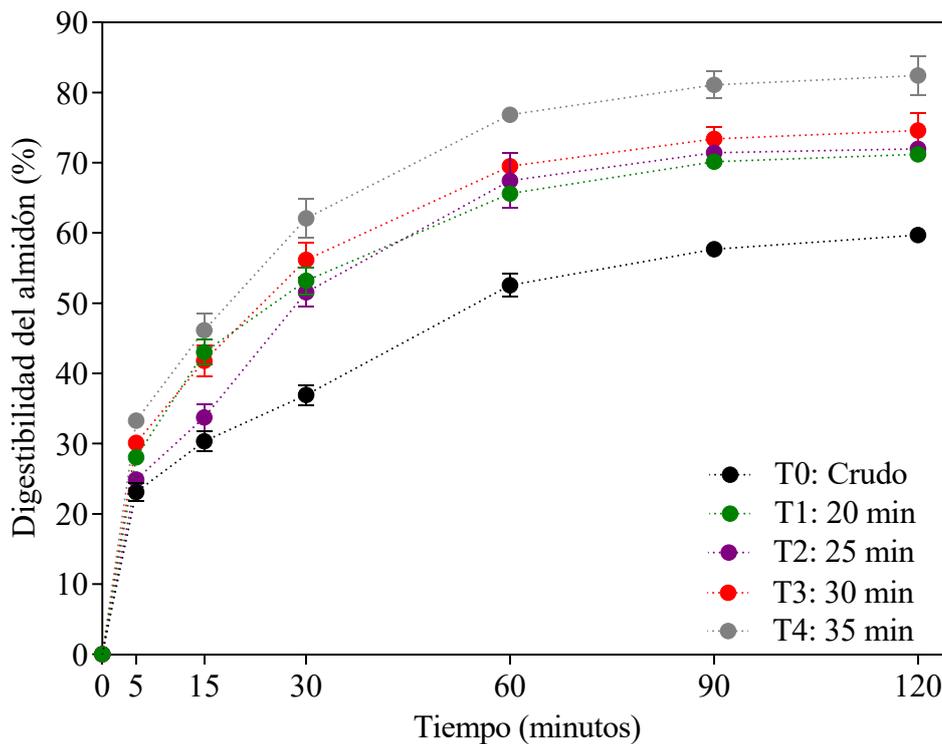
En relación al contenido de proteína y extracto etéreo, los cambios fueron marginales y por lo tanto no se correlacionaron con el tiempo de cocción. Contrario a ello, Soaud *et al.* (2021) analizó que en las semillas de caupí verde después del proceso de cocción presentan una reducción en la proteína debido a su pérdida durante la cocción, ya que una pequeña cantidad de aminoácidos puede solubilizarse en el agua de cocción, provocando una disminución en el contenido de proteína de las semillas. Asimismo, Nosworthy *et al.* (2017) reporta una reducción de 1 a 2 % de proteína tras la cocción de semillas de garbanzo y frijoles pinto. No obstante, Nosworthy *et al.* (2018), menciona que el procesamiento térmico (extrusión, horneado o cocción) en lentejas verdes y rojas no alteró drásticamente el contenido de proteína dado que solo se observó un aumento inferior al 2 %.

Por otro lado, aun cuando existen revisiones sobre los granos de leguminosas frescos o verdes que contienen cantidades más bajas de proteína en comparación con los granos secos de la misma especie (Ntatsi *et al.*, 2018); otros autores como Carvalho *et al.* (2022) informan que el contenido de proteína de semillas frescas de frejol caupí (29.4 %) es significativamente mayor que en las semillas secas (27.0 %), por lo que las leguminosas frescas podrían ser una buena alternativa a las hortalizas hiperproteicas para ser consumidos como vegetales.

#### **4.3.2. DIGESTIBILIDAD DEL ALMIDÓN *IN VITRO* E ÍNDICE GLUCÉMICO**

##### **a. Cinética de hidrólisis del almidón**

La Figura 19 muestra los perfiles de hidrólisis del almidón de semillas de pajuro (crudo y cocido) durante una digestión *in vitro* con la enzima  $\alpha$ -amilasa, donde se evidenció diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos y entre cada tiempo de hidrólisis (5, 15, 30, 60, 90 y 120 minutos).

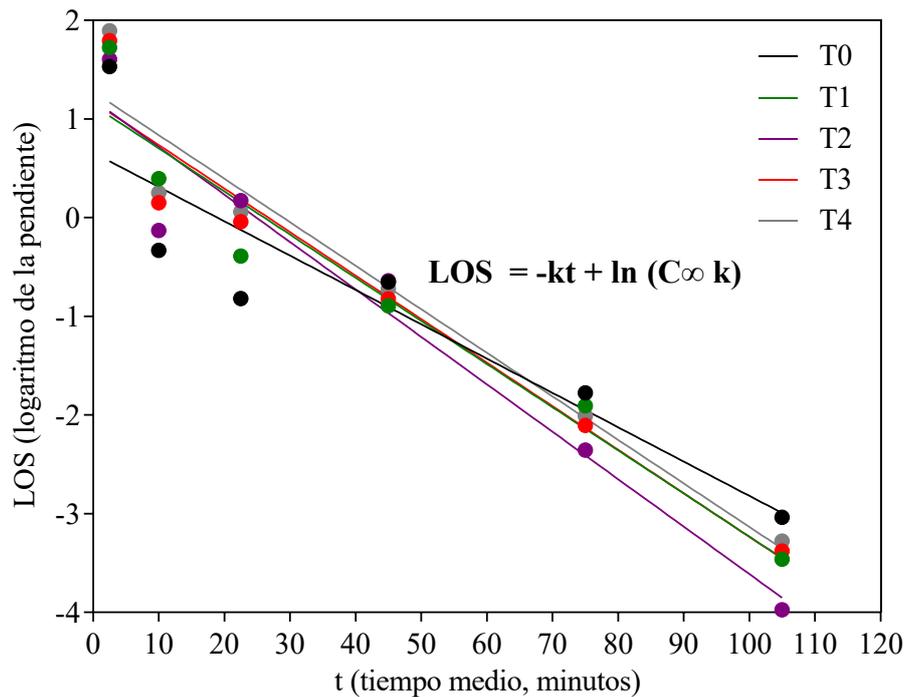


**Figura 19: Curvas de cinética de hidrólisis del almidón *in vitro* de semillas de pajuro**

Los datos experimentales de la digestión enzimática del almidón de pajuro siguieron el comportamiento cinético de primer orden sugerido por diversos autores (Butterworth *et al.*, 2012; Edwards *et al.*, 2019; Goñi *et al.*, 1997). La ecuación a la que se ajusta dicho comportamiento corresponde a  $C_t = C_{\infty}(1 - e^{-kt})$ ; donde el valor de  $C$  es el porcentaje de digestibilidad del almidón y a partir de estos datos experimentales se obtuvieron los índices de digestibilidad del almidón que se analizan posteriormente.

#### **b. Linealización de la cinética de hidrólisis**

En la Figura 20 se muestra las gráficas de linealización de la cinética de hidrólisis para cada tratamiento. Para evaluar el ajuste del modelo se analizó el coeficiente de determinación ( $R^2$ ). El ajuste de la ecuación mostró valores satisfactorios de  $R^2$  ( $>0.9$ ) especialmente para los tratamientos T1, T2, T3 y T4; sin embargo, este no fue el caso de T0 cuyo  $R^2$  fue  $<0.8$ .



**Figura 20: Logaritmo de la pendiente (LOS) para semillas de pajuro**

Los parámetros obtenidos de las regresiones se muestran en la Tabla 12. De acuerdo a Butterworth *et al.* (2022), a partir de las gráficas LOS se obtuvo los parámetros cinéticos, como la constante de velocidad de primer orden ( $k$ ) y el porcentaje de almidón digerido en el punto final ( $C_{\infty}$ ), con los que se puede evaluar la eficacia catalítica y la facilidad de digestibilidad del almidón por la  $\alpha$ -amilasa. Al respecto, Edwards *et al.* (2019) mencionan que las gráficas de LOS que presentan una constante de velocidad alta ( $k > 0.01$ ), significa que se calcularon valores de  $C_{\infty}$  confiables. Los valores de  $k$  obtenidos se encuentran por encima del límite confiable y muestran una baja variación ( $0.03 - 0.05 \text{ min}^{-1}$ ).

Por otro lado, también se presentan las constantes obtenidas para pan blanco, alimento comúnmente tomado como referencia de acuerdo a diversas investigaciones para el cálculo de IH (Chinedum *et al.*, 2018; Goñi *et al.*, 1997; Piecyk *et al.*, 2019). Según Chinedum *et al.* (2018), el IH se puede utilizar para predecir los efectos de los alimentos ricos en almidón y expresa la digestibilidad del almidón en los alimentos en relación con la digestibilidad del almidón en un estándar dado, como el pan blanco. Posteriormente este parámetro será usado para determinar el índice glucémico previsto (IGp).

**Tabla 12: Parámetros para evaluar el ajuste del modelo en base a la cinética de primer orden**

Tratamiento	Pendiente	Intercepto	R <sup>2</sup>	k (min <sup>-1</sup> )	C <sub>∞</sub> (%)	IH <sub>90</sub>
T0 (crudo)	-0.03478	0.659	0.771	0.03	55.58	67.65
T1 (20 min)	-0.04372	1.140	0.923	0.04	71.52	94.10
T2 (25 min)	-0.04807	1.196	0.906	0.05	68.79	93.06
T3 (30 min)	-0.04412	1.178	0.914	0.04	73.61	97.13
T4 (35 min)	-0.04412	1.278	0.914	0.04	81.36	107.34
Pan blanco <sup>1</sup>	-	-	-	0.04	78.19	100.00

<sup>1</sup>Referencia tomada de Goñi *et al.* (1997).

k: Constante de velocidad de primer orden.

C<sub>∞</sub>: Almidón digerido en el punto final de la reacción.

IH<sub>90</sub>: Índice de hidrólisis a los 90 min.

### c. Índices de digestibilidad del almidón

En la Tabla 13 se muestra una descripción general de los índices *in vitro* C<sub>20</sub>, C<sub>90</sub> e IGp, obtenidos del cálculo de las curvas de primer orden  $C_t = C_{\infty}(1 - e^{-kt})$ .

**Tabla 13: Índices de digestibilidad del almidón calculados a partir de las curvas de primer orden**

Tratamiento	C <sub>20</sub> (%)	C <sub>90</sub> (%)	IGp
T0 (crudo)	27.86	53.16	66.51
T1 (20 min)	41.69	70.12	89.31
T2 (25 min)	42.49	67.88	88.41
T3 (30 min)	43.15	72.23	91.92
T4 (35 min)	47.69	79.82	100.73

C<sub>20</sub>: Almidón digerido *in vitro* calculado a los 20 minutos.

C<sub>90</sub>: Almidón digerido *in vitro* calculado a los 90 minutos.

IGp: Índice glucémico predicho.

El tratamiento T0 que no se expuso a cocción, mostró el valor más bajo de digestibilidad del almidón. Este resultado coincide con Edwards *et al.* (2019). Por su parte, Butterworth *et al.* (2022) señalan que la birrefringencia de los gránulos de almidón nativo (crudo), es decir la estructura granular compacta semicristalina, hacen que la amilólisis avance lentamente y en un grado limitado. Sumado a ello, el almidón nativo tiene bajos rendimientos de hidrólisis debido a la falta de pretratamientos para la gelatinización de los gránulos de almidón, lo que implica la absorción de agua, el hinchamiento de los gránulos y la lixiviación principalmente de la fracción de amilosa, lo que produce un almidón que es más amorfo y, por lo tanto, más digerible que el almidón crudo nativo (Almeida *et al.*, 2022; Butterworth *et al.*, 2022; Verkempinck *et al.*, 2020). Es posible observar que la cocción fue más efectiva sobre los tratamientos T3 y T4, siendo este último el que presentó los rendimientos de hidrólisis más altos, lo que puede justificarse por el mayor tiempo de cocción que favorece la gelatinización y, en consecuencia, facilitan el acceso de la enzima al sustrato.

A los 20 minutos ( $C_{20}$ ) se había digerido <30 % en T0. En el caso de las semillas cocidas su digestibilidad a los 20 min fue >41 %, mientras que a los 90 min fue >67 %; estos valores se encontraron por encima de lo reportado por Edwards *et al.* (2019) en lentejas, garbanzo y frijol cocidos, cuya digestibilidad a los 20 min fue de 12, 13 y 9 %, y a los 90 min 36, 47 y 41 %, respectivamente. Sin embargo, T1, T3 y T4 coincidieron con Edwards *et al.* (2020) que menciona que la digestibilidad del almidón de la harina de legumbres cocidas es mayor al 70 % después de 90 minutos de hidrólisis y es a este tiempo que se obtiene el grado máximo de digestión logrado por la amilólisis del almidón. Además, se evidenció que el porcentaje de almidón hidrolizado a los 90 minutos ( $C_{90}$ ) fue muy próximo al punto final de hidrólisis ( $C_{\infty}$ ) y por lo tanto a ese tiempo se dio la máxima de digestión.

Para predecir el efecto del procesamiento, se determinó el índice glucémico predicho (IGp) basado en  $IH_{90}$ ; tras la cocción se vio un aumento del IGp de 34.3, 32.9, 38.2, 51.4 % para T1, T2, T3 y T4, respectivamente. Según Goñi *et al.* (1997) el IG de los alimentos se pueden clasificar en alto (>70), intermedio (56 – 69) y bajo IG (<55); sobre esa base, el IGp de la semilla cruda fue intermedio y todos los tratamientos cocidos presentaron un IGp alto (88 – 100). Asimismo, el aumento del índice glucémico con el tiempo de cocción se correlacionó positivamente ( $r = 0.87$ ,  $p < 0.001$ ), mientras que su relación con la firmeza tuvo una correlación débil ( $r = -0.64$ ,  $p < 0.033$ ); esto coincidió con lo reportado por Abdel-Aal *et al.*

(2019) para habas cocidas. Por lo tanto, el almidón y su comportamiento luego del calentamiento también podrían contribuir a la textura de los productos de legumbres cocidos. En comparación con a otras harinas de legumbres, el IGp de las semillas crudas y cocidas de pajuro fue mayor al frijol común y frijol almorta crudo (55.23 y 57.1, respectivamente) y cocido (61.28 y 78.8, respectivamente) (Chinedum *et al.*, 2018; Piecyk *et al.*, 2019). Además, Bello-Pérez *et al.* (2007) reporta que el IGp de habas frescas cocidas fue 60.9.

Los IGp obtenidos en nuestro estudio fueron altos, principalmente para las semillas cocidas. Las condiciones y el alcance del procesamiento de semillas hasta la obtención de las harinas son de importancia clave en este caso. Estas diferencias de las tasas de digestibilidad pueden deberse a factores como la distribución física del almidón en relación con los componentes de la fibra dietética, antinutrientes e inhibidores (Mohan *et al.*, 2016; Zhong *et al.*, 2018), la influencia de las condiciones hidrotérmicas y la ruptura mecánica ocasionada durante la molienda en seco (Verkempinck *et al.*, 2020) y los tiempos de cocción que facilitan el acceso de las enzimas a las porciones de amilosa y amilopectina (Khrisanapant *et al.*, 2021). Al respecto, De la Rosa-Millán *et al.* (2020) reportan que los garbanzos cocidos por un proceso severo de cocción a chorro presentan un IGp alto (85.34), esto fue cercano al IGp determinado a los 25 min de cocción (T2) en las semillas de pajuro cocidas, además con este tiempo se obtuvo un menor aumento del IGp tras la cocción. No obstante, según Butterworth *et al.* (2022) seleccionar un menor tiempo de cocción reduce la tasa de hidrólisis y baja el IG, lo cual tienden a evitar variaciones rápidas y exageradas de la glucemia y, por lo tanto, es menos probable que aumenten los riesgos de desarrollar enfermedades cardiovasculares y diabetes tipo 2 a largo plazo.

#### **4.3.3. DIGESTIBILIDAD DE LA PROTEÍNA *IN VITRO* Y ACTIVIDAD DEL INHIBIDOR DE TRIPSINA**

Los valores de digestibilidad proteica *in vitro* y la actividad del inhibidor de tripsina de las semillas de pajuro crudas y cocidas se encuentran en la Tabla 14.

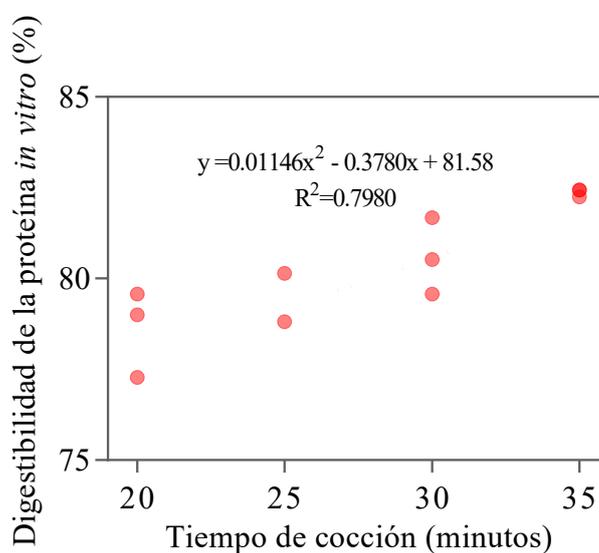
La semilla no tratada (T0) tuvo una digestibilidad proteica *in vitro* significativamente inferior a los tratamientos cocidos; además, presentaron una correlación positiva fuerte con el tiempo de cocción ( $r = 0.88$ ,  $p < 0.001$ ). No obstante, el modelo polinomial que mejor se

ajustó presentó un bajo coeficiente de determinación, lo que sugiere que solo el 79.80 % de variabilidad en la digestibilidad de la proteína puede ser explicada por el tiempo de cocción (Figura 21).

**Tabla 14: Digestibilidad de la proteína *in vitro* y actividad del inhibidor de tripsina en base seca**

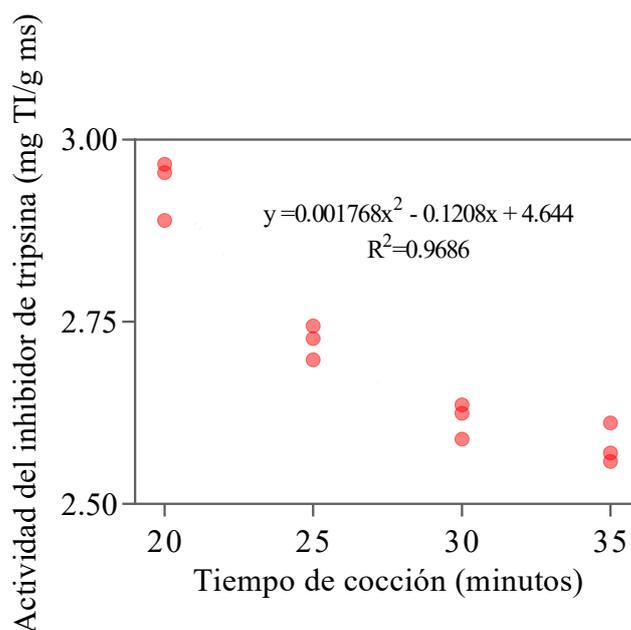
Tratamiento	Digestibilidad de la proteína <i>in vitro</i> (%)	Actividad del inhibidor de tripsina (mg TI/g)
T0 (crudo)	75.82 ± 0.55 <sup>a</sup>	52.25 ± 0.4 <sup>a</sup>
T1 (20 min)	78.62 ± 1.19 <sup>b</sup>	2.94 ± 0.04 <sup>b</sup>
T2 (25 min)	79.25 ± 0.77 <sup>b</sup>	2.72 ± 0.02 <sup>b</sup>
T3 (30 min)	80.59 ± 1.05 <sup>bc</sup>	2.62 ± 0.02 <sup>b</sup>
T4 (35 min)	82.37 ± 0.11 <sup>c</sup>	2.58 ± 0.03 <sup>b</sup>

Resultados expresados como el promedio ± DS (n=3).  
 Letras diferentes por columna indica diferencia significativa (p<0.05).



**Figura 21: Modelo polinomial de correlación entre la digestibilidad de la proteína *in vitro* y el tiempo de cocción**

Considerando la actividad del inhibidor de tripsina en las semillas de pajuro cocidas se evidenció una tendencia inversa, dado que T0 presentó una actividad del inhibidor de tripsina significativamente superior a los tratamientos cocidos, además, se observó una correlación negativa fuerte entre la actividad del inhibidor de tripsina y el tiempo de cocción ( $r = -0.86$ ,  $p < 0.001$ ). Asimismo, se obtuvo un alto coeficiente de determinación, sugiriendo que la variabilidad de 96.86 % de la actividad del inhibidor de tripsina es explicado por el tiempo de cocción (Figura 22).



**Figura 22: Modelo polinomial de correlación entre los carbohidratos y el tiempo de cocción**

Se ha demostrado que el procesamiento térmico aumenta la digestibilidad de las proteínas porque inactiva o destruye los factores antinutritivos (Martineau-Côté *et al.*, 2022); tal es el caso de los inhibidores de tripsina y algunas lectinas que son termolábiles, y acaban siendo eliminados o inactivados durante la cocción (Bessada *et al.*, 2019). Esto se refleja en este estudio, ya que la cocción aumentó la digestibilidad proteica y esta se correlacionó negativamente con la actividad del inhibidor de tripsina ( $r = -0.73$ ,  $p < 0.002$ ), además de correlacionarse con el tiempo de cocción, como se mencionó líneas arriba. Según Shi *et al.* (2017), la actividad del inhibidor de tripsina en las legumbres varía ampliamente, evidenciando que tras la cocción de guisantes, lentejas y habas se redujo al 100 %, en judías comunes y soja de 92.58 – 93.70 %, y reducciones menores en garbanzos y guisantes de 78.74 – 88.37 %. De acuerdo a ello, los tratamientos T1, T2, T3 y T4 tuvieron una reducción

alta de la actividad del inhibidor de tripsina (94.4, 94.8, 95.0 y 95.1 %, respectivamente), pero no se llegó a la eliminación total. Además, Kumar *et al.*, (2022), menciona que el descascarado de las legumbres da como resultado un aumento de la actividad inhibidora de la tripsina debido a que estos están presentes en las fracciones de cotiledón de las legumbres y, después de quitar la cubierta de la semilla, su concentración aumenta.

Por otro lado, Nosworthy *et al.* (2018) presentó resultados similares a la digestibilidad de la proteína *in vitro* e *in vivo* para lenteja roja que va desde 84.67 % (90.95 % *in vivo*) para harinas cocidas hasta 88.01 % (92.38 % *in vivo*) para harina extruida y 84.03 % (86.42 % *in vivo*) para lentejas verdes cocidas hasta 84.30% (86.02 % *in vivo*) para harina extruida; además señala que en todos los casos las mediciones *in vitro* fue más baja que *in vivo*. Asimismo, Sánchez-Velázquez *et al.* (2021) menciona que el frijol común, lentejas y guisantes partidos crudos mostraron 77, 83.5 y 84.5 % de digestibilidad de proteínas, respectivamente; además tras la cocción mejoró en un 3.5 – 10.7 %. La digestibilidad de la proteína de los tratamientos T1, T2, T3 y T4 aumentó en 3.7, 4.5, 6.3 y 8.6 %, lo cual es comparable a lo reportado en literatura. Sumado a ello, este efecto no solo se debe a la reducción del contenido de antinutrientes o a la eliminación de los compuestos bioactivos que se sabe que forman complejos con las proteínas, sino también, al efecto de calentamiento en la estructura terciaria de las proteínas, lo que permite la desnaturalización de las proteínas en legumbres – especialmente las globulinas dado que representan alrededor del 70 % de la fracción proteica – exponiendo así su estructura y reduciendo su resistencia a las proteasas y haciéndolas más accesibles a la acción enzimática (Bessada *et al.*, 2019; Sánchez-Velázquez *et al.*, 2021).

#### **4.3.4. COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE**

Como se observa en la Tabla 15 en los compuestos fenólicos totales (CFT) y la capacidad antioxidante presentaron diferencias significativas entre los tratamientos. El contenido de CFT para la semilla cruda (T0) fue significativamente mayor a las cocidas (1.61 mg AGE/g), mientras que las semillas cocidas T2, T3 y T4 no presentaron diferencia entre sí ( $p > 0.05$ ). Además, el CFT presentó una correlación negativa débil con el tiempo de cocción ( $r = -0.59$ ,  $p < 0.033$ ).

**Tabla 15: Compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante de la semilla de pajuro en base seca**

<b>Tratamiento</b>	<b>CFT (mg EAG/g)</b>	<b>DPPH (<math>\mu</math>mol ET/g)</b>	<b>ABTS (<math>\mu</math>mol ET/g)</b>
T0 (crudo)	1.61 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>	37.99 $\pm$ 0.85 <sup>a</sup>	201.09 $\pm$ 6.79 <sup>a</sup>
T1 (20 min)	1.41 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	35.77 $\pm$ 1.51 <sup>ab</sup>	178.85 $\pm$ 6.80 <sup>b</sup>
T2 (25 min)	1.22 $\pm$ 0.03 <sup>c</sup>	32.39 $\pm$ 0.43 <sup>c</sup>	140.42 $\pm$ 0.68 <sup>d</sup>
T3 (30 min)	1.33 $\pm$ 0.02 <sup>bc</sup>	34.75 $\pm$ 0.43 <sup>bc</sup>	155.04 $\pm$ 6.73 <sup>c</sup>
T4 (35 min)	1.24 $\pm$ 0.03 <sup>c</sup>	33.37 $\pm$ 0.31 <sup>c</sup>	149.23 $\pm$ 1.73 <sup>dc</sup>

Resultados expresados como el promedio  $\pm$  DS (n=3).

Letras diferentes por columna indica diferencia significativa (p<0.05).

CFT: Compuestos fenólicos totales.

EAG: Equivalente de ácido gálico.

DPPH: Capacidad antioxidante por DPPH.

ABTS: Capacidad antioxidante por ABTS.

ET: Equivalente de Trolox.

Según Sánchez-Velázquez *et al.* (2021), el contenido de CFT en T0 fue mayor a lo reportado en lentejas rojas, guisantes, frijol común blanco y garbanzo (<1 mg EAG/g), pero menor a lentejas verdes, frijol rojo y habas (>6 mg EAG/g), además se reporta que el CFT de estas legumbres disminuyó significativa entre 28 – 66 % tras la cocción. Una menor reducción presentaron las semillas de almorta, donde se perdió 8 % de polifenoles, oscilando de 1.21 a 1.11 mg AGE/g bs tras la cocción (Piecyk *et al.*, 2019). Asimismo, Gandhi *et al.* (2022) observó una disminución significativa cerca del 50 % del contenido fenólico total en las harinas de lentejas hervidas (1.07-1.34 mg EAG/g). Por su parte, Chinedum *et al.* (2018) menciona que los CFT de frijol crudo y procesado no difieren significativamente (pasando de 8.0 a 8.3 mg AGE/g bs luego de la cocción), lo que sugiere que hervir los frijoles en este caso no afectó los compuestos fenólicos. En las semillas de pajuro se observó una reducción menor que lo reportado líneas arriba de los compuestos fenólicos del 12.6, 24.2, 17.7 y 23.1 % para T1, T2, T3 y T4, respectivamente.

Al respecto, Granito *et al.* (2007) mostraron una disminución de CFT en pallar cocido, sugiriendo que los tratamientos térmicos podrían afectar los anillos aromáticos de los compuestos fenólicos haciéndolos más susceptibles a la polimerización y descomposición. Asimismo, el contenido fenólico tras el procesamiento tiende a disminuir por lixiviación en al agua de cocción, es decir, el calor podría destruir la estructura de la semilla permitiendo

la liberación de compuestos fenólicos en el agua de cocción (Mohan *et al.*, 2016; Zhong *et al.*, 2018). Por el contrario, Jiratanan & Liu (2004) reportaron un aumento significativo de CFT y actividad antioxidante en legumbres cocidas; esto lo atribuyen al hecho de que los compuestos fenólicos generalmente están unidos covalentemente a grupos funcionales de aminos y, por lo tanto, el tratamiento térmico puede hidrolizarlos, aumentando la capacidad de extracción. Asimismo, Chinedum *et al.* (2018) y (Zhao *et al.*, 2019) han informado que la cocción suaviza la pared celular y otros componentes de las células, como las vacuolas, liberando así los compuestos fenólicos. Además, se puede dar la descomposición de los compuestos fenólicos que están ligados a las fibras (celulosa y pectina), o incluso la ruptura de los enlaces entre los fenoles y los azúcares. Ambos sucesos pudieron ocurrir durante los tiempos de cocción del pajuro.

La capacidad antioxidante DPPH presentó una reducción del 5.8, 14.7, 8.5 y 12.2 %, al igual que ABTS con 11.1, 30.2, 22.9 y 25.8 % para T1, T2, T3 y T4, respectivamente. Esta tendencia a disminuir se correlacionó positivamente con el contenido de CFT ( $r=0.88$  para DPPH y  $r=0.92$  para ABTS,  $p < 0.001$ ). Al respecto, Gandhi *et al.* (2022) presentó un comportamiento similar, registrando una reducción significativa de las actividades de barrido de radicales DPPH y ABTS en harinas de lentejas cocidas. Asimismo, Jamdar *et al.* (2017) menciona que el garbanzo, guisante negro, guisante blanco, caupí y lenteja también mostraron reducción de su actividad antioxidante con la cocción de las semillas. Según Gandhi *et al.* (2022), esta reducción podría atribuirse a la disolución de los fenoles en el agua de procesamiento, así como la destrucción de estos compuestos con el tratamiento térmico.

Aun cuando no se presentó una correlación significativa entre los CFT y el IGp ni con la digestibilidad de la proteína, se tiene que los compuestos fenólicos tienen efectos sobre el metabolismo de los carbohidratos que involucran la inhibición de la  $\alpha$ -amilasa y la  $\alpha$ -glucosidasa, lo que ralentiza la digestión de los carbohidratos de la dieta (Chinedum *et al.*, 2018); asimismo, pueden formar complejos con proteínas, lo que da como resultado una menor digestibilidad (Bessada *et al.*, 2019).

## V. CONCLUSIONES

1. El análisis de las características físicas de las semillas de pajuro crudas determinó que presentan forma reniforme, de color marrón rojizo oscuro, además destacan por su tamaño y peso superior al de otras legumbres. Mientras que en su composición química resaltan por su contenido de carbohidratos (72.20 %) y proteínas (21.15 %).
2. El tratamiento con mejores resultados tras la cocción fue T2 (25 minutos), a este tiempo se redujo significativamente la actividad del inhibidor de tripsina de 52.25 a 2.72 mg TI/g; al mismo tiempo, se evidenció una disminución de compuestos fenólicos totales de 1.61 a 1.22 mg EAG/g, la capacidad antioxidante por DPPH de 37.99 a 32.39  $\mu\text{mol ET/g}$  y por ABTS de 201.09 a 140.42  $\mu\text{mol ET/g}$ , que resulto inferior a lo observado en otras investigaciones. La digestibilidad de la proteína *in vitro* aumento de 75.82 a 79.25 % y se obtuvo el menor índice glucémico predicho (88.41). El tiempo de cocción no tuvo efecto en el contenido de proteína.
3. Este trabajo demostró que observar el efecto del tiempo de cocción brinda información que puede garantizar la conservación de nutrientes, reducción de antinutrientes, digestibilidad modulada y buena capacidad antioxidante de las semillas de pajuro.

## **VI. RECOMENDACIONES**

- Evaluar el tiempo de cocción empleando el método automático Mattson.
- Validar la predicción del tiempo de cocción con un estudio de preferencia del consumidor.
- Analizar el efecto de la cocción tradicional en semillas de pajuro proveniente de la sierra centro y sur del Perú.
- Determinar el perfil y contenido de alcaloides en semillas de pajuro después del proceso de cocción tradicional.

## VII. BIBLIOGRAFÍA

- AACC. (2016). Métodos aprobados de la American Association of Cereal Chemists. En *Method 56-36.01. Method for Determining Firmness of Cooked Pulses. Approved August, 2012.* (10.<sup>a</sup> ed.). Cereals & Grains Association; Recuperado de <https://www.cerealsgrains.org/Pages/default.aspx>
- Abdel-Aal, E.-S. M., Ragae, S., Rabalski, I., Warkentin, T., & Vandenberg, A. (2019). Nutrient content and viscosity of Saskatchewan-grown pulses in relation to their cooking quality. *Canadian Journal of Plant Science*, 99(1), 67-77. <https://doi.org/10.1139/cjps-2018-0140>
- Acero, L. E. (2002). *Guía para el cultivo y aprovechamiento del Chachafruto o Balú (Erythrina edulis) Triana ex Micheli.* Recuperado de <http://babel.banrepcultural.org/cdm/ref/collection/p17054coll10/id/1300>
- Almeida, R. L. J., Santos, N. C., de Brito Lima, W. B., de Araújo Padilha, C. E., Rios, N. S., & dos Santos, E. S. (2022). Effect of enzymatic hydrolysis on digestibility and morpho-structural properties of hydrothermally pre-treated red rice starch. *International Journal of Biological Macromolecules*, 222, 65-76. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.09.089>
- Amarowicz, R., & Pegg, R. B. (2019). Natural antioxidants of plant origin. *Advances in Food and Nutrition Research*, 90, 1-81. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2019.02.011>
- Antonio, A. L., Pereira, E., Pinela, J., Heleno, S., Pereira, C., & Ferreira, I. C. F. R. (2016). Determination of Antioxidant Compounds in Foodstuff. En *Food Safety* (pp. 179-220). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781119160588.ch6>
- AOAC. (2016). *Official Methods of Analysis.* 925.10, 984.13, 920.85, 920.86, 923.03. (20.<sup>a</sup> ed.). Association of Official Analytical Chemists.

- Arango, O., Bolaños, V., Ricaurte, D., Caicedo, M., & Guerrero, Y. (2012). Obtención de un extracto proteico a partir de harina de chachafruto (*Erythrina edulis*). *Universidad y Salud*, 14(2), 161-167.
- Araujo, V. A. (2005). *Estudio taxonómico e histológico de seis especies del género Erythrina L. (Fabaceae)* [Tesis de maestría, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. Recuperado de <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/1581>
- Barrera, N., & Mejía, M. (1998). *Chachafruto, balú, sachaporoto; Erythrina edulis, Triana. Pasado, presente y futuro*. Universidad Nacional de Colombia - UNAL; Recuperado de <http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/handle/11348/4120>
- Bello-Pérez, L. A., Islas-Hernández, J. J., Rendón-Villalobos, J. R., Agama-Acevedo, E., Morales-Franco, L., & Tovar, J. (2007). *In vitro* starch digestibility of fresh and sun-dried faba beans (*Vicia faba L.*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(8), 1517-1522. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2876>
- Belščak-Cvitanović, A., Durgo, K., Huđek, A., Bačun-Družina, V., & Komes, D. (2018). 1—Overview of polyphenols and their properties. En C. M. Galanakis (Ed.), *Polyphenols: Properties, Recovery, and Applications* (pp. 3-44). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813572-3.00001-4>
- Bento, J. A. C., Bassinello, P. Z., Cruz, Q. A. da, Mendonça, M. A. D. S., Borba, T. C. de O., Vanier, N. L., Neto, M. A. S., Ferreira, K. C., Silva, G. de L. P. e, & Oliveira, A. L. M. de. (2020). The convenience of non-conventional methods for evaluation of the culinary quality of beans. *Research, Society and Development*, 9(11). <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i11.10103>
- Bento, J. A. C., Ferreira, K. C., Bassinello, P. Z., & Oomah, B. D. (2021). Factors affecting the cooking quality of stored carioca beans (*Phaseolus vulgaris*). *Italian Journal of Food Science*, 33(4), 43-56. <https://doi.org/10.15586/ijfs.v33i4.2025>
- Bergoñón, S. (1994). *Aislamiento y caracterización química de alcaloides del tipo Amaryllidaceae. Producción de galantamina por cultivos* [Tesis de doctorado, Universidad de Barcelona]. Recuperado de <https://www.tdx.cat/handle/10803/2629>
- Berrios, J. D. J., Swanson, B. G., & Adeline Cheong, W. (1999). Physico-chemical characterization of stored black beans (*Phaseolus vulgaris L.*). *Food Research International*, 32(10), 669-676. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(99\)00144-1](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(99)00144-1)

- Bessada, S. M. F., Barreira, J. C. M., & Oliveira, M. B. P. P. (2019). Pulses and food security: Dietary protein, digestibility, bioactive and functional properties. *Trends in Food Science & Technology*, *93*, 53-68. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2019.08.022>
- Bhattacharya, S., & Malleshi, N. G. (2012). Physical, chemical and nutritional characteristics of premature-processed and matured green legumes. *Journal of Food Science and Technology*, *49*(4), 459-466. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0299-y>
- Butterworth, P. J., Bajka, B. H., Edwards, C. H., Warren, F. J., & Ellis, P. R. (2022). Enzyme kinetic approach for mechanistic insight and predictions of *in vivo* starch digestibility and the glycaemic index of foods. *Trends in Food Science & Technology*, *120*, 254-264. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.11.015>
- Butterworth, P. J., Warren, F. J., Grassby, T., Patel, H., & Ellis, P. R. (2012). Analysis of starch amylolysis using plots for first-order kinetics. *Carbohydrate Polymers*, *87*(3), 2189-2197. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.10.048>
- Caiza, J. (2011). *Obtención de hidrolizado de proteína chocho (Lupinus mutabilis) a partir de harina integral* [Tesis de licenciatura, Escuela Politécnica Nacional]. Recuperado de <http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/4387/1/CD-3992.pdf>
- Carvalho, M., Carnide, V., Sobreira, C., Castro, I., Coutinho, J., Barros, A., & Rosa, E. (2022). Cowpea Immature Pods and Grains Evaluation: An Opportunity for Different Food Sources. *Plants*, *11*(16), Article 16. <https://doi.org/10.3390/plants11162079>
- Chinedum, E., Sanni, S., Theresa, N., & Ebere, A. (2018). Effect of domestic cooking on the starch digestibility, predicted glycemic indices, polyphenol contents and alpha amylase inhibitory properties of beans (*Phaseolis vulgaris*) and breadfruit (*Treculia africana*). *International Journal of Biological Macromolecules*, *106*, 200-206. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.08.005>
- Chirinos, R., Pedreschi, R., Rogez, H., Larondelle, Y., & Campos, D. (2013). Phenolic compound contents and antioxidant activity in plants with nutritional and/or medicinal properties from the Peruvian Andean region. *Industrial Crops and Products*, *47*, 145-152. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.02.025>
- Chirinos, R., Zuloeta, G., Pedreschi, R., Mignolet, E., Larondelle, Y., & Campos, D. (2013). Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*): A seed source of polyunsaturated fatty acids,

- tocopherols, phytosterols, phenolic compounds and antioxidant capacity. *Food Chemistry*, 141(3), 1732-1739. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.04.078>
- D'Amore, C. (2017). *Evaluación nutricional de harina proteica de Erythrina edulis* [Tesis de licenciatura, Universidad Central de Venezuela]. Recuperado de <http://saber.ucv.ve/handle/10872/15104>
- De Cillis, F., Leoni, B., Massaro, M., Renna, M., & Santamaria, P. (2019). Yield and Quality of Faba Bean (*Vicia faba L. var. major*) Genotypes as a Vegetable for Fresh Consumption: A Comparison between Italian Landraces and Commercial Varieties. *Agriculture*, 9(12), 253. <https://doi.org/10.3390/agriculture9120253>
- De la Rosa-Millán, J., Orona-Padilla, J. L., Flores-Moreno, V. M., & Serna-Saldívar, S. O. (2020). Effect of jet-cooking and hydrolyses with amylases on the physicochemical and *in vitro* digestion performance of whole chickpea flours. *International Journal of Food Science and Technology*, 55(2), 690-701. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14338>
- Delgado, V. D. (2018). *Calidad proteica de las semillas de pajuro (Erythrina edulis Triana) sometidas a cocción tradicional y extrusión* [Tesis de maestría, Universidad Nacional Agraria La Molina]. Recuperado de <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/20.500.12996/3149>
- Delgado-Soriano, V. D., Cortés-Avendaño, P., Guevara-Pérez, A., & Vílchez-Perales, C. (2020). Características físico-químicas de las semillas de pajuro (*Erythrina edulis Triana*) y propiedades funcionales después de la extrusión. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 22(3), 263-273. <https://doi.org/10.18271/ria.2020.660>
- Delgado-Soriano, V. D., Cortés-Avendaño, P., Guevara-Pérez, A., & Vílchez-Perales, C. (2022). Digestibilidad proteica de semillas de Pajuro (*Erythrina edulis Triana*) sometidas a cocción tradicional. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 24(2), 75-83. <https://doi.org/10.18271/ria.2022.333>
- Drulyte, D., & Orlien, V. (2019). The Effect of Processing on Digestion of Legume Proteins. *Foods*, 8, 224. <https://doi.org/10.3390/foods8060224>
- Edwards, C., Cochetel, N., Setterfield, L., Perez-Moral, N., & J. Warren, F. (2019). A single-enzyme system for starch digestibility screening and its relevance to understanding and predicting the glycaemic index of food products. *Food & Function*, 10(8), 4751-4760. <https://doi.org/10.1039/C9FO00603F>

- Edwards, C., Ryden, P., Pinto, A. M., van der Schoot, A., Stocchi, C., Perez-Moral, N., Butterworth, P. J., Bajka, B., Berry, S. E., Hill, S. E., & Ellis, P. R. (2020). Chemical, physical and glycaemic characterisation of PulseON®: A novel legume cell-powder ingredient for use in the design of functional foods. *Journal of Functional Foods*, 68, 103918. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103918>
- Escamilo, S. (2015). *El pajuro: Tesoro alimenticio escondido en los Andes*. Fondo Editorial Universidad de San Martín de Porres. Lima, Perú
- Espinoza, G. (2018). *Análisis químico proximal de granos y harina de "Pajuro" (Erythrina edulis) y elaboración de una bebida proteica con sabor a chocolate* [Tesis de licenciatura, Universidad Peruana Cayetano Heredia]. Recuperado de <https://repositorio.upch.edu.pe/handle/20.500.12866/3764>
- Estación Experimental Agraria, Andenes - Cusco. (2004). INIA 408 - Sumac Puka: Nueva variedad de frijol para valles interandinos. *Instituto Nacional de Innovación Agraria - INIA*. Recuperado de <https://repositorio.inia.gob.pe/handle/20.500.12955/694>
- Estación Experimental Agraria, Andenes - Cusco. (2014). Haba INIA 401- Cusco. *Instituto Nacional de Innovación Agraria - INIA*. Recuperado de <https://repositorio.inia.gob.pe/handle/20.500.12955/718>
- Estación Experimental Agraria, Santa Rita - Arequipa. (2014). Frijol Canario Camanejo. *Instituto Nacional de Innovación Agraria - INIA*. Recuperado de <https://repositorio.inia.gob.pe/handle/20.500.12955/64>
- Parlamento Europeo, Reglamento (CE) N° 1924/2006, Relativo a las declaraciones de propiedades nutricionales y saludables de los alimentos, Anexo 17, (2006), Recuperado de <http://data.europa.eu/eli/reg/2006/1924/oj/eng>
- Fahmy, N. M., Al-Sayed, E., El-Shazly, M., & Nasser Singab, A. (2020). Alkaloids of genus *Erythrina*: An updated review. *Natural Product Research*, 34(13), 1891-1912. <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1564300>
- FAO. (1985). *Procesamiento de semillas de cereales y leguminosas de grano: Directrices técnicas*. Food & Agriculture Org.
- FAO. (1999). *Los Carbohidratos en la Nutrición Humana*. Food and Agriculture Organization of the United Nations.

- FAO. (2003). Chapter 3: Calculation of the energy content of foods—Energy conversion factors. En *Food energy- methods of analysis and conversion factors. Report of a Technical Workshop*. Food and Agriculture Organization; Recuperado de <https://www.fao.org/3/y5022e/y5022e04.htm#bm4>
- FAO. (2016). *Legumbres: Semillas nutritivas para un futuro sostenible*. Food and Agriculture Organization. <https://doi.org/10.4060/i5528s>
- FAO. (2018). *Nuestras legumbres | FAO*. Food and Agriculture Organization; Recuperado de <http://www.fao.org/agroecology/database/detail/es/c/1187188/>
- FAO/OMS. (1993). *Codex Classification of Foods and Animal Feeds*. Food and Agriculture Organization; Recuperado de [https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXA%2B4-1989%252FCXA\\_004e.pdf](https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXA%2B4-1989%252FCXA_004e.pdf)
- Franco, T. L., & Hidalgo, R. (Eds.). (2003). *Análisis estadístico de datos de caracterización morfológica de recursos fitogenéticos*. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI); Recuperado de <http://www.biodiversityinternational.org/e-library/publications/detail/analisis-estadistico-de-datos-de-caracterizacion-morfologica-de-recursos-fitogeneticos/>
- Fulcher CA, SRI International. (2011). *MetaCyc EC 3.2.1.-*. Data base MetaCyc. Recuperado de <https://metacyc.org/META/NEW-IMAGE?type=REACTION-IN-PATHWAY&object=RNX-12190#>
- Gandhi, H., Toor, B. S., Kaur, A., & Kaur, J. (2022). Effect of processing treatments on physicochemical, functional and thermal characteristics of lentils (*Lens Culinaris*). *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16(6), 4603-4614. <https://doi.org/10.1007/s11694-022-01549-1>
- GBIF.Org. (2022). *Occurrence Download*. The Global Biodiversity Information Facility. <https://doi.org/10.15468/DL.ZVRYT2>
- Goñi, I., García-Alonso, A., & Saura-Calixto, F. (1997). A starch hydrolysis procedure to estimate glycemic index. *Nutrition Research*, 17(3), 427-437.
- Granfeldt, Y., Björck, I., Drews, A., & Tovar, J. (1992). An *in vitro* procedure based on chewing to predict metabolic response to starch in cereal and legume products. *European Journal of Clinical Nutrition*, 46(9), 649-660.

- Granito, M., Brito, Y., & Torres, A. (2007). Chemical composition, antioxidant capacity and functionality of raw and processed *Phaseolus lunatus*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(15), 2801-2809. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2926>
- Grillparzer, M. (2006). *Tabla del índice glucémico de los alimentos*. Editorial HISPANO EUROPEA.
- Guerra-Almonacid, C. M., Torruco-Uco, J. G., Murillo-Arango, W., Méndez-Arteaga, J. J., & Rodríguez-Miranda, J. (2019). Effect of ultrasound pretreatment on the antioxidant capacity and antihypertensive activity of bioactive peptides obtained from the protein hydrolysates of *Erythrina edulis*. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 31(4), 288-296. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2019.v31.i4.1938>
- Guillamón, E., Pedrosa, M. M., Burbano, C., Cuadrado, C., Sánchez, M. de C., & Muzquiz, M. (2008). The trypsin inhibitors present in seed of different grain legume species and cultivar. *Food Chemistry*, 107(1), 68-74. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.07.029>
- Gülçin, İ. (2012). Antioxidant activity of food constituents: An overview. *Archives of Toxicology*, 86(3), 345-391. <https://doi.org/10.1007/s00204-011-0774-2>
- Hogervorst, J., Atanacković, M., Bursać, M., & Miljić, U. (2017). Chapter 7—Polyphenols. En C. M. Galanakis (Ed.), *Nutraceutical and Functional Food Components* (pp. 203-258). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805257-0.00007-7>
- Holm, J., Björck, I., Asp, N. G., Sjöberg, L. B., & Lundquist, I. (1985). Starch availability *in vitro* and *in vivo* after flaking, steam-cooking and popping of wheat. *Journal of Cereal Science*, 3(3), 193-206. [https://doi.org/10.1016/S0733-5210\(85\)80013-8](https://doi.org/10.1016/S0733-5210(85)80013-8)
- Hoover, R., & Zhou, Y. (2003). *In vitro* and *in vivo* hydrolysis of legume starches by  $\alpha$ -amylase and resistant starch formation in legumes—A review. *Carbohydrate Polymers*, 54(4), 401-417. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(03\)00180-2](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(03)00180-2)
- Ibarz, A., González, C., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2004). Kinetic models for water adsorption and cooking time in chickpea soaked and treated by high pressure. *Journal of Food Engineering*, 63(4), 467-472. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2003.09.008>

- INIA. (2010). Variedad de Haba INIA 423 – Blanca Gigante Yunguyo. *Instituto Nacional de Innovación Agraria*. Recuperado de <https://repositorio.inia.gob.pe/handle/20.500.12955/1878>
- Intiquilla, A., Jiménez-Aliaga, K., Guzmán, F., Alvarez, C. A., Zavaleta, A. I., Izaguirre, V., & Hernández-Ledesma, B. (2019). Novel antioxidant peptides obtained by alcalase hydrolysis of *Erythrina edulis* (pajuro) protein. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *99*(5), 2420-2427. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9449>
- Intiquilla, A., Jiménez-Aliaga, K., Zavaleta, A. I., Arnao, I., Peña, C., Chavez-Hidalgo, E. L., & Hernández-Ledesma, B. (2016). *Erythrina edulis* (Pajuro) Seed Protein: A New Source of Antioxidant Peptides. *Natural Product Communications*, *11*(6). <https://doi.org/10.1177/1934578X1601100620>
- IPGRI. (2001). *International Plant Genetic Resources Instit. Descriptores para Phaseolus vulgaris*. Recuperado de <http://www.biodiversityinternational.org/e-library/publications/detail/descriptores-para-phaseolus-vulgaris/>
- Jamdar, S. N., Deshpande, R., & Marathe, S. A. (2017). Effect of processing conditions and *in vitro* protein digestion on bioactive potentials of commonly consumed legumes. *Food Bioscience*, *20*, 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2017.07.007>
- Jiratanan, T., & Liu, R. H. (2004). Antioxidant Activity of Processed Table Beets (*Beta vulgaris var, conditiva*) and Green Beans (*Phaseolus vulgaris L.*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *52*(9), 2659-2670. <https://doi.org/10.1021/jf034861d>
- Khrisanapant, P., Leong, S. Y., Kebede, B., & Oey, I. (2021). Effects of Hydrothermal Processing Duration on the Texture, Starch and Protein *In vitro* Digestibility of Cowpeas, Chickpeas and Kidney Beans. *Foods*, *10*(6), 1415. <https://doi.org/10.3390/foods10061415>
- Kumar, S. R., Sadiq, M. B., & Anal, A. K. (2022). Comparative study of physicochemical and functional properties of soaked, germinated and pressure cooked *Faba bean*. *Journal of Food Science and Technology*, *59*(1), 257-267. <https://doi.org/10.1007/s13197-021-05010-x>

- Kumar, Y., Basu, S., Goswami, D., Devi, M., Shivhare, U. S., & Vishwakarma, R. K. (2022). Anti-nutritional compounds in pulses: Implications and alleviation methods. *Legume Science*, 4(2), e111. <https://doi.org/10.1002/leg3.111>
- Laurent, B., Jean-Blaise, T., & Carl, M. F. M. (2008). PC-Based Instrumentation System for the Study of Bean Cooking Kinetic. *Journal of Applied Sciences*, 8(6), 1103-1107. <https://doi.org/10.3923/jas.2008.1103.1107>
- Lehmann, U., & Robin, F. (2007). Slowly digestible starch—Its structure and health implications: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 18(7), 346-355. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.02.009>
- Liu, K. (2021). Comparison of ISO 14902:2001 with AOCS Ba 12a-2020 for determining trypsin inhibitor activity in protein products. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 98(12), 1115-1129. <https://doi.org/10.1002/aocs.12542>
- Lobefaro, S., Piciocchi, C., Luisi, F., Miraglia, L., Romito, N., Luneia, R., Foti, S., Mocini, E., Poggiogalle, E., Lenzi, A., & Donini, L. M. (2021). Cooking techniques and nutritional quality of food: A comparison between traditional and innovative ways of cooking. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 25, 100-381. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2021.100381>
- Magallanes, K. J. (2021). *Caracterización físicoquímica, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de tres variedades de Frijol (Phaseolus vulgaris L.) de cinco localidades, Lima—Ica* [Tesis de ingeniería, Universidad Nacional Agraria La Molina]. Recuperado de <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/20.500.12996/4671>
- Martineau-Côté, D., Achouri, A., Karboune, S., & L'Hocine, L. (2022). Faba Bean: An Untapped Source of Quality Plant Proteins and Bioactives. *Nutrients*, 14(8), 1541. <https://doi.org/10.3390/nu14081541>
- Martínez, A. (2020). *Química de productos naturales*. Universidad de Antioquia; Recuperado de <https://bibliotecadigital.udea.edu.co/handle/10495/16148>
- McCrorry, M. A., Hamaker, B. R., Lovejoy, J. C., & Eichelsdoerfer, P. E. (2010). Pulse Consumption, Satiety, and Weight Management. *Advances in Nutrition*, 1(1), 17-30. <https://doi.org/10.3945/an.110.1006>

- Mehta, B. M. (2015). Nutritional and Toxicological Aspects of the Chemical Changes of Food Components and Nutrients During Heating and Cooking. En P. C. K. Cheung & B. M. Mehta (Eds.), *Handbook of Food Chemistry* (pp. 897-936). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-36605-5\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-642-36605-5_1)
- Mejía, M., Jaramillo, A., & Barrera, N. (1993). Estudios preliminares sobre desarrollo y manejo de la semilla de chachafruto, *Erythrina edulis* T. *Acta Agronómica*, 43(1-4), 57-68.
- Melo, N. Q. C., Moreira-Araújo, R. S. dos R., Araújo, M. A. da M., & Rocha, M. de M. (2017). Chemical characterization of green grain before and after thermal processing in biofortified cowpea cultivars1. *Revista Ciência Agronômica*, 48, 811-816. <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20170095>
- Miceli, A., & Miceli, C. (2012). Effect of thermal treatments on vitality and physical characteristics of bean, chickpea and lentil. *Journal of Stored Products Research*, 51, 86-91. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2012.08.001>
- Mohan, V. R., Tresina, P. S., & Daffodil, E. D. (2016). Antinutritional Factors in Legume Seeds: Characteristics and Determination. En Elsevier (Ed.), *Encyclopedia of Food and Health* (pp. 211-220). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00036-2>
- Mujica, M. V., Granito, M., & Soto, N. (2011). Propiedades físicas y calidad de cocción de leguminosas cultivadas en Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía de La Universidad del Zulia*, 28(1), 104-122.
- Nasar-Abbas, S. M., Plummer, J. A., Siddique, K. H. M., White, P., Harris, D., & Dods, K. (2008). Cooking quality of faba bean after storage at high temperature and the role of lignins and other phenolics in bean hardening. *LWT - Food Science and Technology*, 41, 1260-1267. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.07.017>
- Nosworthy, M. G., Franczyk, A., Zimoch-Korzycka, A., Appah, P., Utioh, A., Neufeld, J., & House, J. D. (2017). Impact of Processing on the Protein Quality of Pinto Bean (*Phaseolus vulgaris*) and Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) Flours and Blends, As Determined by *in vitro* and *in vivo* Methodologies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(19), 3919-3925. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b00697>

- Nosworthy, M. G., Medina, G., Franczyk, A. J., Neufeld, J., Appah, P., Utioh, A., Frohlich, P., & House, J. D. (2018). Effect of processing on the *in vitro* and *in vivo* protein quality of red and green lentils (*Lens culinaris*). *Food Chemistry*, *240*, 588-593. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2017.07.129>
- Nosworthy, M. G., Neufeld, J., Frohlich, P., Young, G., Malcolmson, L., & House, J. D. (2017). Determination of the protein quality of cooked Canadian pulses. *Food Science & Nutrition*, *5*(4), 896-903. <https://doi.org/10.1002/fsn3.473>
- Ntatsi, G., Gutiérrez-Cortines, M. E., Karapanos, I., Barros, A., Weiss, J., Balliu, A., Rosa, E. A. dos S., & Savvas, D. (2018). The quality of leguminous vegetables as influenced by preharvest factors. *Scientia Horticulturae*, *232*, 191-205. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.12.058>
- Padulosi, S., & Hoeschle-Zeledon, I. (2004). ¿A qué denominamos especies subutilizadas? *Leisa*, *20*(1). Recuperado de <https://www.leisa-al.org/web/index.php/volumen-20-numero-1/2117-a-que-denominamos-especies-subutilizadas>
- Pälchen, K., Van den Wouwer, B., Duijsens, D., Hendrickx, M. E., Van Loey, A., & Grauwet, T. (2022). Utilizing Hydrothermal Processing to Align Structure and *In vitro* Digestion Kinetics between Three Different Pulse Types. *Foods*, *11*(2), 206. <https://doi.org/10.3390/foods11020206>
- Palma-Albino, C., Intiquilla, A., Jiménez-Aliaga, K., Rodríguez-Arana, N., Solano, E., Flores, E., Zavaleta, A. I., Izaguirre, V., & Hernández-Ledesma, B. (2021). Albumin from *Erythrina edulis* (Pajuro) as a Promising Source of Multifunctional Peptides. *Antioxidants*, *10*(11), 1722. <https://doi.org/10.3390/antiox10111722>
- Pastor, S., Fuentealba, B., & Ruiz, M. (2006). Cultivos Subutilizados en el Perú: Análisis de las Políticas Públicas Relativas a su Conservación y Uso Sostenible. En *Asociación Civil Pro Uso DIVERSITAS - PROUD Sociedad Peruana de Derecho Ambiental – SPDA*. Recuperado de [http://www.spda.org.pe/?wpfb\\_dl=62](http://www.spda.org.pe/?wpfb_dl=62)
- Pérez, G., De Martínez, C., & Díaz, E. (1979). Evaluation of the protein quality of *Erythrina edulis* (balú). *Archivos Latinoamericanos De Nutricion*, *29*(2), 193-207.
- Pérez, O. (2011). CHACHAFRUTO EL ARBOL DEL HOMBRE. *Fundación CIESAM (Centro de Investigación y Educación en Soluciones Alimentarias para el Mundo)*.

Recuperado de <https://1library.co/document/qopmpm5z-chachafruto-el-arbol-del-hombre.html>

- Piecyk, M., Worobiej, E., Wołosiak, R., Drużyńska, B., & Ostrowska-Ligęza, E. (2019). Effect of different processes on composition, properties and *in vitro* starch digestibility of grass pea flour. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(1), 848-856. <https://doi.org/10.1007/s11694-018-9997-8>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Revilla, I. (2015). Impact of Thermal Processing on Faba Bean (*Vicia faba*) Composition. En *Processing and Impact on Active Components in Food*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-404699-3.00040-8>
- Reyes García, M., Gómez-Sánchez Prieto, I., & Espinoza Barrientos, C. (2017). *Tablas peruanas de composición de alimentos*. Instituto Nacional de Salud; Recuperado de <https://repositorio.ins.gob.pe/handle/INS/1034>
- Reyes-Moreno, C., Paredes-López, O., & Gonzalez, E. (1993). Hard-to-cook phenomenon in common beans—A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 33(3), 227-286. <https://doi.org/10.1080/10408399309527621>
- Sánchez-Arteaga, H. M., Urías-Silvas, J. E., Espinosa-Andrews, H., & García-Márquez, E. (2015). Effect of chemical composition and thermal properties on the cooking quality of common beans (*Phaseolus vulgaris*). *CyTA - Journal of Food*, 13(3), 385-391. <https://doi.org/10.1080/19476337.2014.988182>
- Sánchez-Velázquez, O. A., Ribéreau, S., Mondor, M., Cuevas-Rodríguez, E. O., Arcand, Y., & Hernández-Álvarez, A. J. (2021). Impact of processing on the *in vitro* protein quality, bioactive compounds, and antioxidant potential of 10 selected pulses. *Legume Science*, 3(2), 88. <https://doi.org/10.1002/leg3.88>
- Sandoval, J. L. S., Fonseca, P. E. R., Arévalo, A. O. H., Sira, E. E. P., Ricci, J., & Dufour, D. (2021). Development and Characterization of Edible Films from Chachafruto (*Erythrina edulis Triana*) Starch. *Starch - Stärke*, 73(9-10). <https://doi.org/10.1002/star.202000269>

- Schoeninger, V., Coelho, S. R. M., Christ, D., & Sampaio, S. C. (2014). Processing parameter optimization for obtaining dry beans with reduced cooking time. *LWT - Food Science and Technology*, 56(1), 49-57. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.11.007>
- Shi, L., Mu, K., Arntfield, S. D., & Nickerson, M. T. (2017). Changes in levels of enzyme inhibitors during soaking and cooking for pulses available in Canada. *Journal of Food Science and Technology*, 54(4), 1014-1022. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2519-6>
- Shimelis, E. A., & Rakshit, S. K. (2005). Proximate composition and physico-chemical properties of improved dry bean (*Phaseolus vulgaris L.*) varieties grown in Ethiopia. *LWT - Food Science and Technology*, 38(4), 331-338. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.07.002>
- Sigma-Aldrich. (2007). *Complex Carbohydrate Analysis- Enzymes, Kits and Reagents*. Recuperado de [https://www.sigmaaldrich.com/PE/es/search/complex-carbohydrate-analysis?focus=documents&page=1&perpage=30&sort=relevance&term=complex%20carbohydrate%20analysis&type=site\\_content](https://www.sigmaaldrich.com/PE/es/search/complex-carbohydrate-analysis?focus=documents&page=1&perpage=30&sort=relevance&term=complex%20carbohydrate%20analysis&type=site_content)
- Sigma-Aldrich. (2013). *Product Information Sheet—SA20*. Recuperado de [https://www.sigmaaldrich.com/PE/es/search/sa20?focus=documents&page=1&perpage=30&sort=relevance&term=sa20&type=site\\_content](https://www.sigmaaldrich.com/PE/es/search/sa20?focus=documents&page=1&perpage=30&sort=relevance&term=sa20&type=site_content)
- Sigma-Aldrich. (2018). *A6255 | Sigma-Aldrich*. Recuperado de [https://www.sigmaaldrich.com/PE/es/search/a6255?focus=documents&page=1&perpage=30&sort=relevance&term=a6255&type=site\\_content](https://www.sigmaaldrich.com/PE/es/search/a6255?focus=documents&page=1&perpage=30&sort=relevance&term=a6255&type=site_content)
- Singh, J., Dartois, A., & Kaur, L. (2010). Starch digestibility in food matrix: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 21(4), 168-180. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.12.001>
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)

- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, *16*(3), 144-158.
- Siqueira, B. S., Bassinello, P. Z., Malgaresi, G., Pereira, W. J., & Fernandes, K. F. (2016). Analyses of technological and biochemical parameters related to the HTC phenomenon in carioca bean genotypes by the use of PCA. *LWT - Food Science and Technology*, *65*, 939-945. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.09.030>
- Siqueira, B. S., Pereira, R., Flávia, K., & Zaczuk, P. (2013). Hardness of carioca beans (*Phaseolus vulgaris L.*) as affected by cooking methods. *LWT - Food Science and Technology*, *54*(1), 13-17. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.05.019>
- Soaud, S. A., Abdel-Sayyed, S. M., Mahgoub, E. M. I., Korma, S. A., Cacciotti, I., Ali, A. H., Siddeeg, A., & Wafa, H. A. M. (2021). Chemical and molecular examinations of some cowpea genotypes using simple sequence repeat and intersimple sequence repeat DNA markers in relation to their cooking quality. *Food Science & Nutrition*, *9*(8), 4298-4309. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2400>
- Sridhar, K. R., & Sharma, B. B. (2021). Bioactive Compounds of Jack Beans (*Canavalia Species*). En H. N. Murthy & K. Y. Paek (Eds.), *Bioactive Compounds in Underutilized Vegetables and Legumes* (pp. 455-481). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-57415-4\\_26](https://doi.org/10.1007/978-3-030-57415-4_26)
- Triviño, T., & Rodríguez, J. (1994). *El chachafruto (Erythrina edulis Micheli): Un valioso recurso genético de los Andes suramericanos, producción de frutos, semillas y forrajes*. CONIF.
- Trópicos. (2020). *Erythrina sect. Pseudo-edules Krukoff & Barneby*. *Taxonomy Browser*. Recuperado de <http://www.tropicos.org/Name/13042351>
- Van Loey, A., Fransis, A., Hendrickx, M., Maesmans, G., & Tobback, P. (1995). Kinetics of quality changes of green peas and white beans during thermal processing. *Journal of Food Engineering*, *24*(3), 361-377. [https://doi.org/10.1016/0260-8774\(95\)90051-C](https://doi.org/10.1016/0260-8774(95)90051-C)
- Vargas, E. (2016). *Caracterización fisicoquímica de pan molde blanco con sustitución parcial de harina de pajuro (Erythrina edulis)* [Tesis de licenciatura, Universidad

Peruana Unión]. Recuperado de  
<https://repositorio.upeu.edu.pe/handle/20.500.12840/438>

- Vargas-Torres, A., Osorio-Díaz, P., Agama-Acevedo, E., Morales-Franco, L., & Bello-Pérez, L. A. (2006). Digestibilidad del almidón en diferentes variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). *Interciencia*, 31(12), 881-884.
- Velásquez, L. F., Montoya, D. F., Jimenez, A. A., Murillo, W., & Méndez, J. J. (2019). *Género Erythrina: Actualidad en la investigación y perspectivas de desarrollo científico*. Ibagué: Sello Editorial Universidad del Tolima, 2019.; Recuperado de <http://repository.ut.edu.co/handle/001/2878>
- Verkempinck, S., Pallares Pallares, A., Hendrickx, M., & Grauwet, T. (2020). Processing as a tool to manage digestive barriers in plant-based foods: Recent advances. *Current Opinion in Food Science*, 35, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.11.007>
- Vilcanqui-Pérez, F., Chaquilla-Quilca, G., Sarmiento-Casavilca, V. H., Céspedes-Orosco, C. N., & Ventura-Saldivar, Y. (2022). Nutritional, physical and sensory characteristics of bread with the inclusion of germinated basul (*Erythrina edulis*) flour. *Journal of Food Science and Technology*, 59(6), 2117-2126. <https://doi.org/10.1007/s13197-021-05246-7>
- Villafuerte, F., Perez, E., Mahfoud, A., Valero, Y., & Enríquez, M. (2021). Characterization of *Erythrina edulis* Triana and obtaining protein isolate. *Italian Journal of Food Science, Special Issue*, 233-241.
- Wang, C. R., Chang, K. C., & Grafton, K. (1988). Canning Quality Evaluation of Pinto and Navy Beans. *Journal of Food Science*, 53(3), 772-776. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1988.tb08953.x>
- Wang, N., Hou, A., Santos, J., & Maximiuk, L. (2017). Effects of Cultivar, Growing Location, and Year on Physicochemical and Cooking Characteristics of Dry Beans (*Phaseolus vulgaris*). *Cereal Chemistry*, 94(1), 128-134. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-04-16-0124-FI>
- Wang, N., Panozzo, J., Wood, J., Malcolmson, L., Arganosa, G., Baik, B.-K., Driedger, D., & Han, J. (2012). AACCI Approved Methods Technical Committee Report: Collaborative Study on a Method for Determining Firmness of Cooked Pulses

- (AACCI Method 56-36.01). *Cereal Foods World*, 57, 230-234.  
<https://doi.org/10.1094/CFW-57-5-0230>
- Wani, I. A., Sogi, D. S., & Gill, B. S. (2013). Physical and cooking characteristics of black gram (*Phaseolus mungoo L.*) cultivars grown in India. *International Journal of Food Science & Technology*, 48(12), 2557-2563. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12249>
- Wani, I. A., Sogi, D. S., Wani, A. A., & Gill, B. S. (2017). Physical and cooking characteristics of some Indian kidney bean (*Phaseolus vulgaris L.*) cultivars. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 16(1), 7-15. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2014.12.002>
- Welch, C. R., Wu, Q., & Simon, J. E. (2008). Recent Advances in Anthocyanin Analysis and Characterization. *Current analytical chemistry*, 4(2), 75-101. <https://doi.org/10.2174/157341108784587795>
- Wood, J. A. (2017). Evaluation of Cooking Time in Pulses: A Review. *Cereal Chemistry*, 94(1), 32-48. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-05-16-0127-FI>
- Yeung, H., Ehlers, J. D., Waniska, R. D., Alviola, J. N., & Rooney, L. W. (2009). Rapid screening methods to evaluate cowpea cooking characteristics. *Field Crops Research*, 112(2), 245-252. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2009.03.010>
- Zhao, C., Liu, Y., Lai, S., Cao, H., Guan, Y., San Cheang, W., Liu, B., Zhao, K., Miao, S., Riviere, C., Capanoglu, E., & Xiao, J. (2019). Effects of domestic cooking process on the chemical and biological properties of dietary phytochemicals. *Trends in Food Science & Technology*, 85, 55-66. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.01.004>
- Zhong, L., Fang, Z., Wahlqvist, M. L., Wu, G., Hodgson, J. M., & Johnson, S. K. (2018). Seed coats of pulses as a food ingredient: Characterization, processing, and applications. *Trends in Food Science and Technology*, 80, 35-42. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.021>

## VIII. ANEXOS

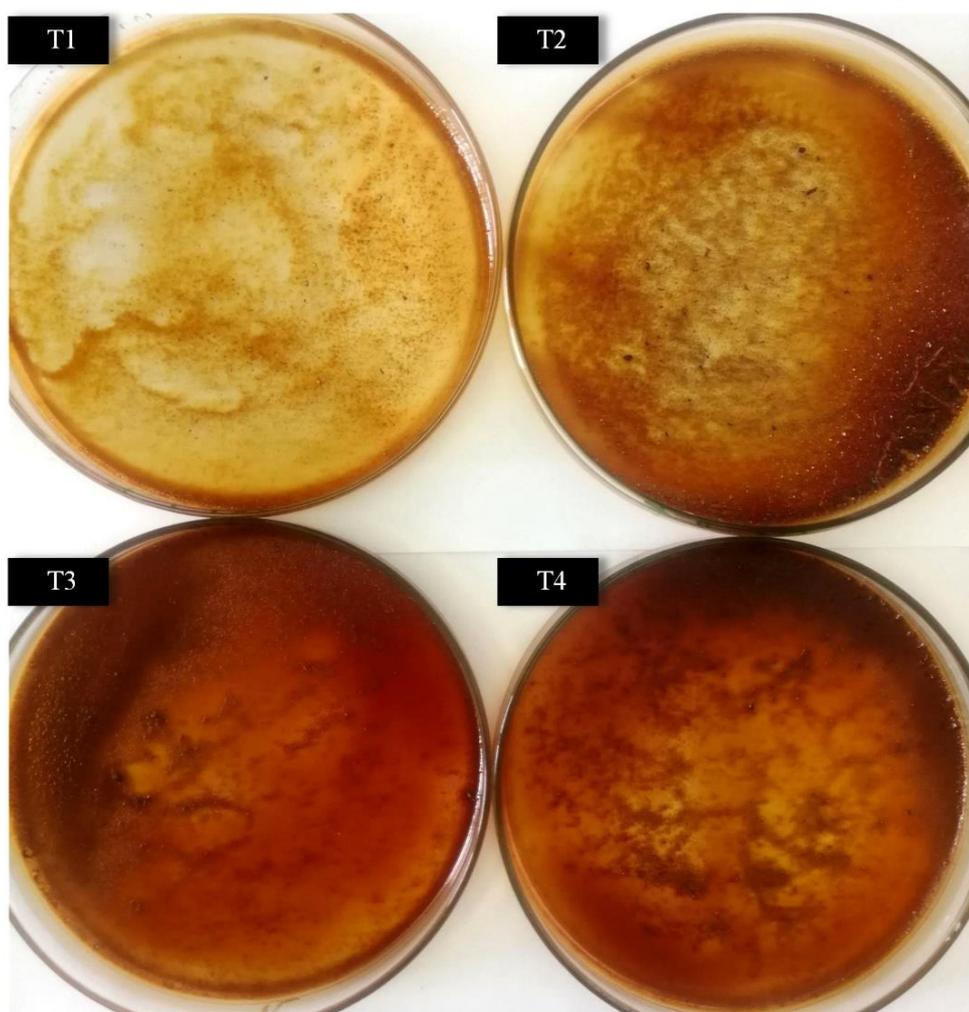
### ANEXO 1: OPERACIONES UNITARIAS PARA LA OBTENCIÓN DE LAS HARINAS DE SEMILLAS DE PAJURO



**ANEXO 2: ESPECIFICACIONES TÉCNICAS DE LA COCINA ELÉCTRICA  
USADA PARA COCCIÓN DE LOS TRATAMIENTOS**

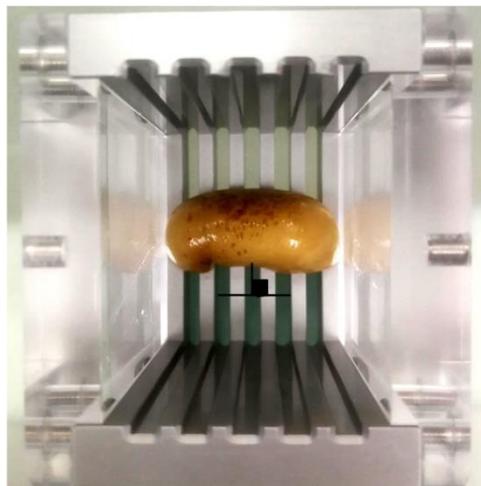
<b>Nombre</b>	Cocina Eléctrica
<b>Modelo</b>	Dinamic Inox MGF8013
<b>Marca</b>	MAGEFESA
<b>Frecuencia, Hz</b>	50-60
<b>Voltaje, V</b>	220-230
<b>Potencia nominal, W</b>	1500

**ANEXO 3: PÉRDIDA DE SÓLIDOS EN AGUA DE COCCIÓN DE SEMILLAS DE  
PAJURO**



(T0) crudo. (T1) 20min. (T2) 25min. (T3) 30min. (T4) 35min cocción

## ANEXO 4: COTILEDÓN DE SEMILLA DE PAJURO COCIDA EN POSICIÓN TRANSVERSAL A LA CELDA DE CORTE MINIKRAMER



## ANEXO 5. PROTOCOLO DE ENSAYO KIT DE ENSAYO DE ALMIDÓN SA20

### Starch Assay

1. Pipette the following solutions into the appropriately marked test tubes.

Tube	Starch Assay Reagent (ml)	Sample (ml)	Deionized Water (ml)
Starch Assay Reagent Blank	1.0	–	1.0
Sample Blank	–	1.0	1.0
Glucose Assay Reagent Blank	–	–	2.0
Test	1.0	1.0	–

2. Mix tubes and incubate for 15 minutes at 60 °C in a shaking water bath.
3. Remove tubes from water bath and cool to room temperature.

### Glucose Assay

Sample volume for this assay will vary depending on the starch content and weight of the original sample. Pipette a volume of solution corresponding to a glucose content of 0.5–50 µg. Repeat the assay and vary the sample volume if necessary to give a  $\Delta A_{340}$  between 0.03–1.6.

1. Pipette the following solutions into the appropriately marked test tubes.

Tube	Glucose Assay Reagent (ml)	Sample Volume in µl (Solutions from Starch Assay)
Starch Assay Reagent Blank	1.0	Same as for Test
Sample Blank	1.0	Same as for Test
Glucose Assay Reagent Blank	1.0	Same as for Test
Test	1.0	10–200

2. Mix tubes and incubate for 15 minutes at room temperature (18–35 °C).
3. Measure the absorbance at 340 nm.

## Results

### Calculations

Total Blank – The total blank must take into account the contribution to the absorbance of the sample, the glucose assay reagent and the starch assay reagent. The absorbance of the glucose assay reagent is subtracted from the sample blank so that the absorbance of the glucose assay reagent is only counted once in the total absorbance since it is in both the sample blank and the starch assay reagent blank.

$$A_{\text{Total Blank}} = (A_{\text{Sample Blank}} - A_{\text{Glucose Assay Reagent Blank}}) + A_{\text{Starch Assay Reagent Blank}}$$

Starch concentration (SC) in the prepared sample (mg/ml) – For calculating the amount in the original sample, the amount dissolved during the sample preparation and any dilutions have to be considered.

$$SC = \frac{(\Delta A) (TVSA/SVSA) (TVGA/SVGA) (\text{Starch MW})}{(\epsilon) (d) (1,000)}$$

$$\Delta A = A_{\text{Test}} - A_{\text{Total Blank}}$$

TVSA = Total Assay Volume from Starch Assay in ml

SVSA = Sample Volume from Starch Assay in ml

TVGA = Total Assay Volume from Glucose Assay in ml

SVGA = Sample Volume from Glucose Assay in ml

Starch MW = 162.1 g/mole or equivalently

162.1  $\mu\text{g}/\mu\text{mole}$

$\epsilon$  = Millimolar Extinction Coefficient for NADH at 340 nm

Millimolar<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> or equivalently (ml/ $\mu\text{moles}$ )(1/cm)

d = Light path (cm) = 1 cm

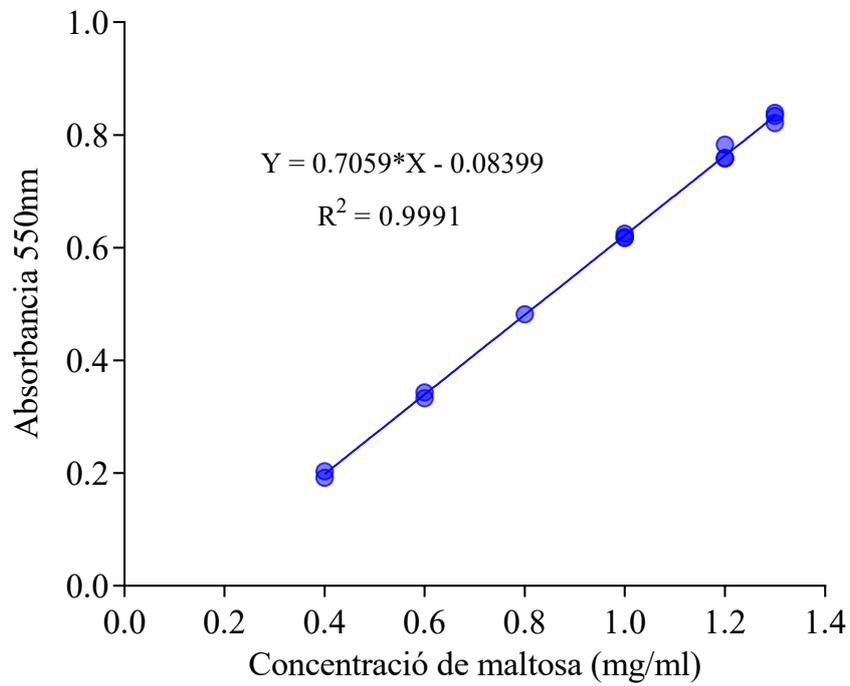
1,000 = Conversion Factor for  $\mu\text{g}$  to mg

FUENTE: Tomado de Sigma-Aldrich (2013)

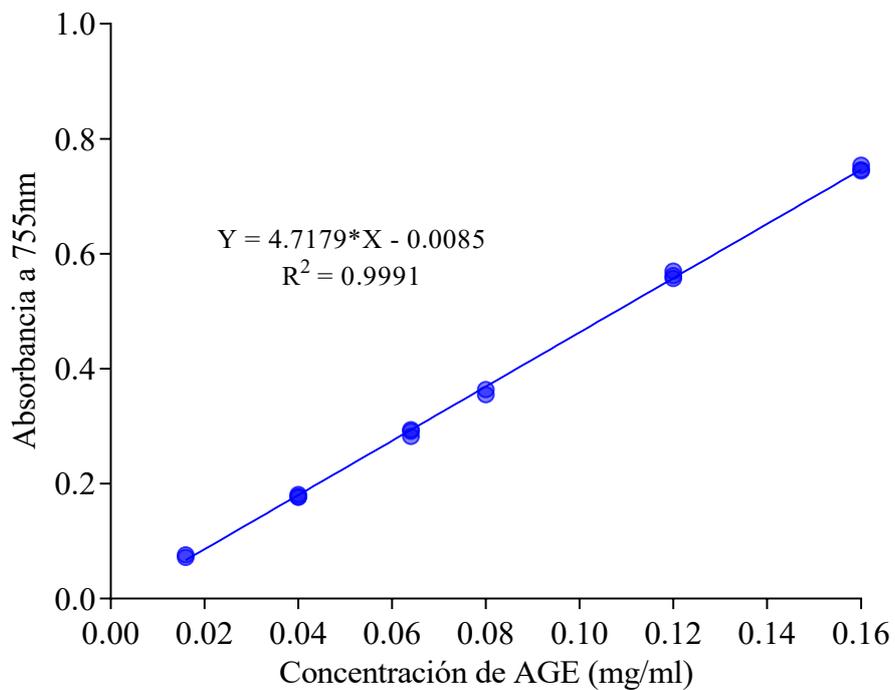
## ANEXO 6: PROCEDIMIENTO PARA MÉTODO DNS

Reactivos/tratamiento	Blanco tampón	Blanco muestra	t <sub>0</sub>	t <sub>5-120</sub>
Muestra ( $\mu\text{L}$ )	0	0	100	100
Sol. Maltosa (2mg/mL) ( $\mu\text{L}$ )	0	250	250	0
Tapón fosfato de sodio 0.2 M, pH 6.9 ( $\mu\text{L}$ )	100	0	0	0
Agua destilada ( $\mu\text{L}$ )	400	250	150	400
Sol. DNS (mL)	1.5	1.5	1.5	1.5
Reacción de coloración del DNS - Baño de agua en ebullición 5min				
Enfriado para detener reacción - Baño de agua a T° amb. x 30seg.				
Tartrato de Na-K 40% (p/v) ( $\mu\text{L}$ )	500	500	500	500
Agua destilada ( $\mu\text{L}$ )	5	5	5	5
Mezcla				
Absorbancia a 550 nm				

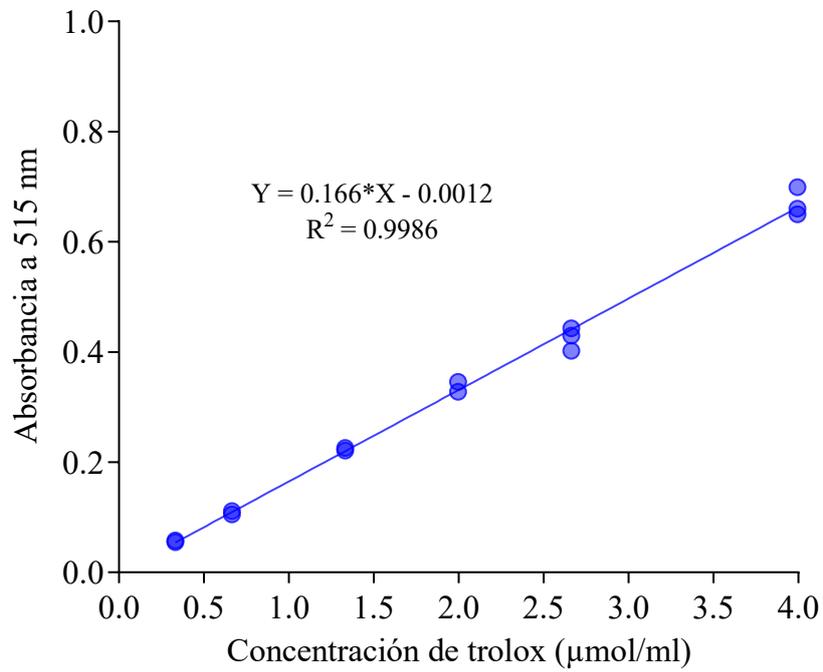
**ANEXO 7: CURVA ESTÁNDAR DE MALTOSA PARA ENSAYO DE DIGESTIBILIDAD DEL ALMIDÓN *IN VITRO***



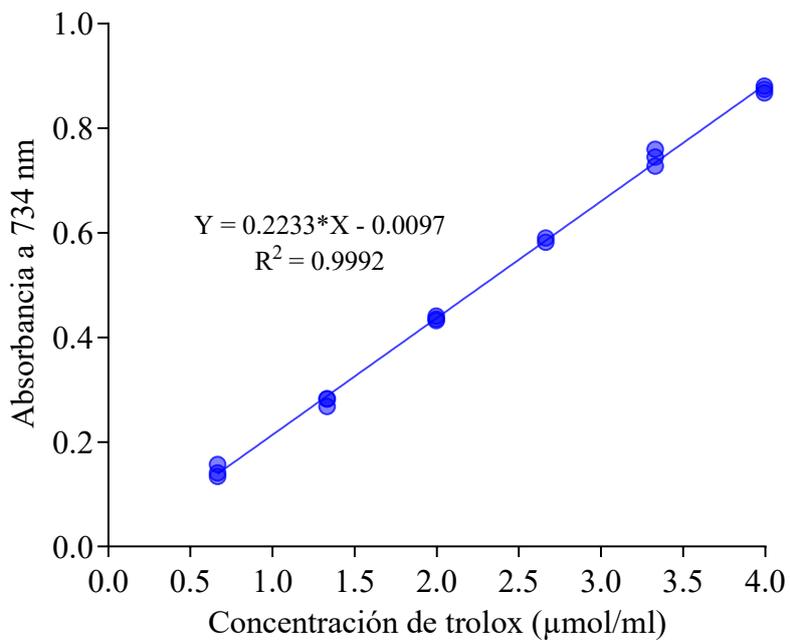
**ANEXO 8: CURVA ESTÁNDAR DE ÁCIDO GÁLICO PARA ENSAYO DE CFT**



**ANEXO 9: CURVA ESTÁNDAR DE TROLOX PARA EL ENSAYO DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DPPH**



**ANEXO 10: CURVA ESTÁNDAR DE TROLOX PARA EL ENSAYO DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE ABTS**



## ANEXO 11: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE PÉRDIDA DE SÓLIDOS

Variable dependiente: Pérdida de Sólidos (mg/100g ms)

Factor: TIEMPO (min)

Número de observaciones: 12

Número de niveles: 4

ANOVA para Pérdida de Sólidos

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	1.38609	3	0.462031	1087.13	0.0000
Intra grupos	0.0034	8	0.000425		
Total (Corr.)	1.38949	11			

Pruebas de Múltiple Rangos para Pérdida de Sólidos

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>TIEMPO (min)</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
T1	3	1.58667	X
T2	3	1.78	X
T3	3	2.08333	X
T4	3	2.48667	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
T1 - T2	*	-0.193333	0.0538844
T1 - T3	*	-0.496667	0.0538844
T1 - T4	*	-0.9	0.0538844
T2 - T3	*	-0.303333	0.0538844
T2 - T4	*	-0.706667	0.0538844
T3 - T4	*	-0.403333	0.0538844

\* indica una diferencia significativa.

## ANEXO 12: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE CONDUCTIVIDAD DEL AGUA DE COCCIÓN

Variable dependiente: Conductividad ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )

Factor: TIEMPO (min)

Número de observaciones: 12

Número de niveles: 4

ANOVA para Conductividad

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	6.33308E7	3	2.11103E7	3291.11	0.0000
Intra grupos	51314.6	8	6414.33		
Total (Corr.)	6.33821E7	11			

Pruebas de Múltiple Rangos para Conductividad

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>TIEMPO (min)</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
T1	3	2772.67	X
T2	3	4354.03	X
T3	3	6086.54	X
T4	3	8967.39	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
T1 - T2	*	-1581.36	209.336
T1 - T3	*	-3313.87	209.336
T1 - T4	*	-6194.72	209.336
T2 - T3	*	-1732.51	209.336
T2 - T4	*	-4613.36	209.336
T3 - T4	*	-2880.85	209.336

\* indica una diferencia significativa.

### ANEXO 13: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE FIRMEZA

Variable dependiente: Firmeza (N/g)

Factor: TIEMPO

Número de observaciones: 24

Número de niveles: 4

ANOVA para Firmeza

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	194.056	3	64.6854	133.90	0.0000
Intra grupos	9.6614	20	0.48307		
Total (Corr.)	203.718	23			

Pruebas de Múltiple Rangos para Firmeza

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>TIEMPO (min)</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
T4	6	6.18	X
T3	6	7.31667	X
T2	6	8.98667	X
T1	6	13.6433	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
T1 - T2	*	4.65667	1.12352
T1 - T3	*	6.32667	1.12352
T1 - T4	*	7.46333	1.12352
T2 - T3	*	1.67	1.12352
T2 - T4	*	2.80667	1.12352
T3 - T4	*	1.13667	1.12352

\* indica una diferencia significativa.

## ANEXO 14: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE ENERGÍA

Variable dependiente: Energía (kcal)

Factor: TIEMPO (min)

Número de observaciones: 15

Número de niveles: 5

ANOVA para Energía

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	95.0062	4	23.7515	57.83	0.0000
Intra grupos	4.107	10	0.4107		
Total (Corr.)	99.1132	14			

Pruebas de Múltiple Rangos para Energía

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>tiempo</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
T0	3	377.2	X
T1	3	377.67	XX
T3	3	378.893	XX
T2	3	379.213	X
T4	3	384.253	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
T0 - T1		-0.47	1.72224
T0 - T2	*	-2.01333	1.72224
T0 - T3		-1.69333	1.72224
T0 - T4	*	-7.05333	1.72224
T1 - T2		-1.54333	1.72224
T1 - T3		-1.22333	1.72224
T1 - T4	*	-6.58333	1.72224
T2 - T3		0.32	1.72224
T2 - T4	*	-5.04	1.72224
T3 - T4	*	-5.36	1.72224

\* indica una diferencia significativa.

## ANEXO 15. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE CARBOHIDRATOS

Variable dependiente: Carbohidratos (%)

Factor: TIEMPO (min)

Número de observaciones: 15

Número de niveles: 5

ANOVA para Carbohidratos

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	9.10213	4	2.27553	61.63	0.0000
Intra grupos	0.3692	10	0.03692		
Total (Corr.)	9.47133	14			

Pruebas de Múltiple Rangos para Carbohidratos

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>tiempo</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
T0	3	72.2033	X
T1	3	72.6233	XX
T2	3	73.0367	XX
T3	3	73.21	X
T4	3	74.51	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
T0 - T1		-0.42	0.516371
T0 - T2	*	-0.833333	0.516371
T0 - T3	*	-1.00667	0.516371
T0 - T4	*	-2.30667	0.516371
T1 - T2		-0.413333	0.516371
T1 - T3	*	-0.586667	0.516371
T1 - T4	*	-1.88667	0.516371
T2 - T3		-0.173333	0.516371
T2 - T4	*	-1.47333	0.516371
T3 - T4	*	-1.3	0.516371

\* indica una diferencia significativa.

## ANEXO 16: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE PROTEÍNA CRUDA

Variable dependiente: Proteína cruda (%)

Factor: TIEMPO (min)

Número de observaciones: 15

Número de niveles: 5

ANOVA para Proteína cruda

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0.48444	4	0.12111	3.97	0.0350
Intra grupos	0.305	10	0.0305		
Total (Corr.)	0.78944	14			

Pruebas de Múltiple Rangos para Proteína cruda

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>tiempo</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
T2	3	20.74	X
T3	3	20.94	XX
T4	3	20.97	XX
T0	3	21.15	XX
T1	3	21.26	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
T0 - T1		-0.11	0.469333
T0 - T2		0.41	0.469333
T0 - T3		0.21	0.469333
T0 - T4		0.18	0.469333
T1 - T2	*	0.52	0.469333
T1 - T3		0.32	0.469333
T1 - T4		0.29	0.469333
T2 - T3		-0.2	0.469333
T2 - T4		-0.23	0.469333
T3 - T4		-0.03	0.469333

\* indica una diferencia significativa.

## ANEXO 17: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE EXTRACTO ETÉREO

Variable dependiente: Extracto etéreo (%)

Factor: TIEMPO (min)

Número de observaciones: 15

Número de niveles: 5

ANOVA para extracto etéreo

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0.136493	4	0.0341233	3.62	0.0450
Intra grupos	0.0942667	10	0.00942667		
Total (Corr.)	0.23076	14			

Pruebas de Múltiple Rangos para extracto etéreo

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>TIEMPO</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
T1	3	0.236667	X
T3	3	0.253333	X
T4	3	0.256667	X
T0	3	0.423333	X
T2	3	0.46	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
T0 - T1		0.186667	0.260922
T0 - T2		-0.0366667	0.260922
T0 - T3		0.17	0.260922
T0 - T4		0.166667	0.260922
T1 - T2		-0.223333	0.260922
T1 - T3		-0.0166667	0.260922
T1 - T4		-0.02	0.260922
T2 - T3		0.206667	0.260922
T2 - T4		0.203333	0.260922
T3 - T4		-0.00333333	0.260922

\* indica una diferencia significativa.

## ANEXO 18: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE FIBRA CRUDA

Variable dependiente: Fibra cruda (%)

Factor: TIEMPO

Número de observaciones: 15

Número de niveles: 5

ANOVA para fibra cruda

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	1.44583	4	0.361457	7.43	0.0048
Intra grupos	0.486467	10	0.0486467		
Total (Corr.)	1.93229	14			

Pruebas de Múltiple Rangos para fibra cruda

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>TIEMPO</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
T0	3	2.76667	X
T1	3	3.07333	XX
T2	3	3.39667	X
T3	3	3.49667	X
T4	3	3.62	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
T0 - T1		-0.306667	0.592731
T0 - T2	*	-0.63	0.592731
T0 - T3	*	-0.73	0.592731
T0 - T4	*	-0.853333	0.592731
T1 - T2		-0.323333	0.592731
T1 - T3		-0.423333	0.592731
T1 - T4		-0.546667	0.592731
T2 - T3		-0.1	0.592731
T2 - T4		-0.223333	0.592731
T3 - T4		-0.123333	0.592731

\* indica una diferencia significativa.

## ANEXO 19: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE CENIZA

Variable dependiente: Ceniza (%)

Factor: TIEMPO

Número de observaciones: 15

Número de niveles: 5

ANOVA para ceniza

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	6.8442	4	1.71105	375.78	0.0000
Intra grupos	0.0455333	10	0.00455333		
Total (Corr.)	6.88973	14			

Pruebas de Múltiple Rangos para ceniza

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>TIEMPO</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
T4	3	4.26	X
T3	3	5.59667	X
T2	3	5.77	XX
T1	3	5.88	X
T0	3	6.22667	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
T0 - T1	*	0.346667	0.181341
T0 - T2	*	0.456667	0.181341
T0 - T3	*	0.63	0.181341
T0 - T4	*	1.96667	0.181341
T1 - T2		0.11	0.181341
T1 - T3	*	0.283333	0.181341
T1 - T4	*	1.62	0.181341
T2 - T3		0.173333	0.181341
T2 - T4	*	1.51	0.181341
T3 - T4	*	1.33667	0.181341

\* indica una diferencia significativa.

## ANEXO 20: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE ALMIDÓN TOTAL

Variable dependiente: Almidón total (%)

Factor: TIEMPO

Número de observaciones: 15

Número de niveles: 5

Tabla ANOVA para Almidón total por Tiempo

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	174.076	4	43.5189	21.56	0.0001
Intra grupos	20.1868	10	2.01868		
Total (Corr.)	194.262	14			

Pruebas de Múltiple Rangos para Almidón total por Tiempo

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Tiempo</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
T3	3	30.16	X
T4	3	30.39	X
T2	3	30.6167	XX
T1	3	34.3967	X
T0	3	38.9633	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
T0 - T1	*	4.56667	3.81825
T0 - T2	*	8.34667	3.81825
T0 - T3	*	8.80333	3.81825
T0 - T4	*	8.57333	3.81825
T1 - T2		3.78	3.81825
T1 - T3	*	4.23667	3.81825
T1 - T4	*	4.00667	3.81825
T2 - T3		0.456667	3.81825
T2 - T4		0.226667	3.81825
T3 - T4		-0.23	3.81825

\* indica una diferencia significativa.

## ANEXO 21: ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA ACTIVIDAD DEL INHIBIDOR DE TRIPSINA

Variable dependiente: Actividad del inhibidor de tripsina (mg TI/g)

Factor: TIEMPO (min)

Número de observaciones: 15

Número de niveles: 5

Tabla ANOVA para Tripsina Inhibida

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	5890.14	4	1472.54	41659.81	0.0000
Intra grupos	0.353467	10	0.0353467		
Total (Corr.)	5890.49	14			

Pruebas de Múltiple Rangos para Tripsina Inhibida

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>TIEMPO</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
T4	3	2.58	X
T3	3	2.61667	X
T2	3	2.72333	X
T1	3	2.93667	X
T0	3	52.2533	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
T0 - T1	*	49.3167	0.505249
T0 - T2	*	49.53	0.505249
T0 - T3	*	49.6367	0.505249
T0 - T4	*	49.6733	0.505249
T1 - T2		0.213333	0.505249
T1 - T3		0.32	0.505249
T1 - T4		0.356667	0.505249
T2 - T3		0.106667	0.505249
T2 - T4		0.143333	0.505249
T3 - T4		0.0366667	0.505249

\* indica una diferencia significativa.

## ANEXO 22: ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA DIGESTIBILIDAD DE LA PROTEÍNA *IN VITRO*

Variable dependiente: Digestibilidad proteína *in vitro* (%)

Factor: TIEMPO

Número de observaciones: 15

Número de niveles: 5

ANOVA para digestibilidad proteína

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	71.0718	4	17.7679	25.91	0.0000
Intra grupos	6.85787	10	0.685787		
Total (Corr.)	77.9296	14			

Pruebas de Múltiple Rangos para digestibilidad proteína

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>TIEMPO</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
T0	3	75.8133	X
T1	3	78.6167	X
T2	3	79.2533	X
T3	3	80.59	XX
T4	3	82.3667	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
T0 - T1	*	-2.80333	2.22549
T0 - T2	*	-3.44	2.22549
T0 - T3	*	-4.77667	2.22549
T0 - T4	*	-6.55333	2.22549
T1 - T2		-0.636667	2.22549
T1 - T3		-1.97333	2.22549
T1 - T4	*	-3.75	2.22549
T2 - T3		-1.33667	2.22549
T2 - T4	*	-3.11333	2.22549
T3 - T4		-1.77667	2.22549

\* indica una diferencia significativa.

**ANEXO 23: ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA COMPUESTOS FENÓLICOS  
TOTALES**

Variable dependiente: CFT (mg EAG/g)

Factor: TIEMPO (MIN)

Número de observaciones: 15

Número de niveles: 5

ANOVA para CFT

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0.301116	4	0.0752789	39.23	0.0000
Intra grupos	0.0191893	10	0.00191893		
Total (Corr.)	0.320305	14			

Pruebas de Múltiple Rangos para CFT

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>TIEMPO</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
T2	3	1.22167	X
T4	3	1.23933	X
T3	3	1.32567	XX
T1	3	1.40833	X
T0	3	1.61133	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
T0 - T1	*	0.203	0.117723
T0 - T2	*	0.389667	0.117723
T0 - T3	*	0.285667	0.117723
T0 - T4	*	0.372	0.117723
T1 - T2	*	0.186667	0.117723
T1 - T3		0.0826667	0.117723
T1 - T4	*	0.169	0.117723
T2 - T3		-0.104	0.117723
T2 - T4		-0.0176667	0.117723
T3 - T4		0.0863333	0.117723

\* indica una diferencia significativa.

**ANEXO 24: ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE  
DPPH**

Variable dependiente: DPPH (umol/g)

Factor: TIEMPO (min)

Número de observaciones: 15

Número de niveles: 5

ANOVA para DPPH

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	56.8337	4	14.2084	18.38	0.0001
Intra grupos	7.729	10	0.7729		
Total (Corr.)	64.5627	14			

Pruebas de Múltiple Rangos para DPPH

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>TIEMPO</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
T2	3	32.39	X
T4	3	33.37	X
T3	3	34.7433	XX
T1	3	35.7733	XX
T0	3	37.9867	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
T0 - T1		2.21333	2.36261
T0 - T2	*	5.59667	2.36261
T0 - T3	*	3.24333	2.36261
T0 - T4	*	4.61667	2.36261
T1 - T2	*	3.38333	2.36261
T1 - T3		1.03	2.36261
T1 - T4	*	2.40333	2.36261
T2 - T3		-2.35333	2.36261
T2 - T4		-0.98	2.36261
T3 - T4		1.37333	2.36261

\* indica una diferencia significativa.

## ANEXO 25: ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

### ABTS

Variable dependiente: ABTS (umol/g)

Factor: TIEMPO (min)

Número de observaciones: 15

Número de niveles: 5

ANOVA para TEAC hidrofílico

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	7338.34	4	1834.58	65.00	0.0000
Intra grupos	282.248	10	28.2248		
Total (Corr.)	7620.59	14			

Pruebas de Múltiple Rangos para ABTS

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>TIEMPO</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
T2	3	140.42	X
T4	3	149.23	XX
T3	3	155.04	X
T1	3	178.85	X
T0	3	201.087	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
T0 - T1	*	22.2367	14.2773
T0 - T2	*	60.6667	14.2773
T0 - T3	*	46.0467	14.2773
T0 - T4	*	51.8567	14.2773
T1 - T2	*	38.43	14.2773
T1 - T3	*	23.81	14.2773
T1 - T4	*	29.62	14.2773
T2 - T3	*	-14.62	14.2773
T2 - T4		-8.81	14.2773
T3 - T4		5.81	14.2773

\* indica una diferencia significativa.