



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**  
**FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN**  
**ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA**



**CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA**

---

Determinación de componentes fenólicos y antioxidantes en la harina de chocho (*Lupinus mutabilis sweet*) y melloco blanco (*Ullucus tuberosus*)

---

Informe Final de Integración Curricular, Modalidad Proyecto de Investigación, previo la obtención del Título de Ingeniera Biotecnóloga, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Este trabajo forma parte del proyecto de investigación interinstitucional Universidad Técnica de Ambato-Universidad Politécnica de Valencia: “Valorización de tubérculos andinos para la obtención de ingredientes alimentarios y su viabilidad. Concienciación de su valor nutritivo y funcional”, coordinado por Liliana Acurio, M. Sc (UTA-CONIN-2022-0269-R).

**Autor:** Jakeline Solimar Suárez Calle

**Tutor:** Lander Vinicio Pérez Aldás

**Ambato-Ecuador**

**Marzo - 2023**

## **APROBACIÓN DEL TUTOR**

**Mg. Quím. Lander Pérez Aldás**

**CERTIFICA**

Que el presente Informe Final de Integración Curricular ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Informe Final de Integración Curricular bajo la Modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 10 de febrero del 2023

---

**Mg. Quím. Lander Pérez Aldás**

**C.I: 1802706596**

**TUTOR**

## **DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD**

Yo, Jakeline Solimar Suárez Calle, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Informe Final de Integración Curricular, modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniera Biotecnóloga, son absolutamente originales, auténticos y personales, a excepción de las citas bibliográficas.



Jakeline Solimar Suárez Calle

**C.I. 140127391-5**

**AUTORA**

## **APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO**

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Informe Final de Integración Curricular, modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato. Por constancia firman:

.....

Dr. Homero Vargas

.....

Mg. Julio César Sosa Cárdenas

C.I. 1716650849

.....

Mg. María Daniela Garcés Moncayo

C.I. 1803571585

Ambato, 03 de marzo del 2023

## **DERECHOS DE AUTOR**

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Informe Final de Integración Curricular o parte de él un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Informe Final de Integración Curricular, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



Jakeline Solimar Suárez Calle

**C.I. 140127391-5**

**AUTORA**

## **DEDICATORIA**

*A Dios*

*A mis padres Silvio y María*

*A mi hermano Alexander*

*A mi familia*

*A los años de esfuerzo*

*Con amor*

*Solimar Suárez*

## AGRADECIMIENTO

*Gracias primeramente a Dios por la vida. Gracias a Él por haber puesto a las personas correctas en mi camino.*

*A ti papi, que has trabajado día y noche para darme lo necesario. A ti mami, que has estado pendiente de mis noches y madrugadas. Por vuestro amor y apoyo incondicional.*

*A ti ñaño, que me has apoyado cuando he sentido que no puedo más.*

*A ustedes tíos, Pablo, Paúl, Verónica, Maritza, Diana, Luis y Ana, quienes me han apoyado desde el inicio de mi vida estudiantil.*

*Al resto de mi familia.*

*A mis amigos, Frank, Melanie, Joselyn y Daniela, por el apoyo dado y el haber compartido conmigo el proceso.*

*A mi tutor, Mg. Quím. Lander Pérez, por su dedicación y colaboración durante la realización de este trabajo de titulación.*

*Al proyecto de investigación “Valorización de tubérculos andinos para la obtención de ingredientes alimentarios y su viabilidad. Concienciación de su valor nutritivo y funcional”, coordinado por Liliana Acurio, por permitir mi ingreso y hacer posible mi trabajo de Integración curricular. Así mismo, agradezco a los ingenieros colaboradores, Diego Salazar, y Fernando Álvarez, por haberme asistido y resuelto dudas en el camino.*

*Para aquellos que estuvieron conmigo.*

## INDICE GENERAL DE CONTENIDO

APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD.....	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO .....	iv
DERECHOS DE AUTOR .....	v
DEDICATORIA .....	vi
AGRADECIMIENTO .....	vii
INDICE GENERAL DE CONTENIDO.....	viii
INDICE DE FIGURAS.....	xi
INDICE DE TABLAS .....	xii
RESUMEN.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
CAPÍTULO 1 .....	1
MARCO TEÓRICO.....	1
1.1.    Antecedentes investigativos .....	1
1.1.1.    Soberanía alimentaria en Ecuador.....	1
1.1.1.1.    Seguridad alimentaria .....	2
1.1.1.2.    Seguridad nutricional.....	2
1.1.2.    Cultivos Andinos en el Ecuador.....	2
1.1.2.1.    Chocho .....	2
1.1.2.1.1.    Generalidades.....	2
1.1.2.1.2.    Usos.....	3
1.1.2.1.3.    Taxonomía .....	4
1.1.2.1.4.    Composición química .....	4
1.1.2.1.5.    Valor nutricional .....	5
1.1.2.2.    Melloco blanco .....	6



1.1.2.2.1. Generalidades .....	6
1.1.2.2.2. Usos.....	7
1.1.2.2.3. Taxonomía .....	7
1.1.2.2.4. Composición química .....	7
1.1.2.2.5. Valor nutricional .....	8
1.1.3. Componentes fenólicos .....	8
1.1.3.1. Identificación de componentes fenólicos por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC).....	8
1.1.3.2. Capacidad antioxidante .....	9
1.2. Objetivos .....	10
1.2.1. Objetivo General .....	10
1.2.2. Objetivos Específicos.....	10
CAPÍTULO 2 .....	11
METODOLOGÍA .....	11
2.1. Ubicación del lugar del experimento.....	11
2.2. Muestreo y sus criterios.....	11
2.3. Preparación de muestras .....	11
2.4. Materiales .....	11
2.5. Métodos .....	14
2.5.1. Obtención y preparación de la muestra .....	14
2.5.2. Obtención de las harinas .....	14
2.5.3. Análisis HPLC de compuestos fenólicos .....	14
2.5.3.1. Preparación de solución estándar (Ácido gálico) .....	15
2.5.3.2. Preparación de las soluciones de harina de chocho y melloco blanco	15
2.5.4. Extracto metanólico .....	16
2.5.5. Capacidad antioxidante .....	16

2.5.5.1.	Preparación del reactivo DPPH y Trolox .....	16
2.5.5.2.	Medición de la actividad antioxidante .....	16
2.5.5.3.	Determinación del porcentaje de inhibición de DPPH.....	17
2.5.6.	Análisis estadístico.....	17
CAPÍTULO 3	.....	18
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	.....	18
3.1.	Análisis y discusión de los resultados .....	18
3.1.1.	Análisis cromatográfico de las harinas de chocho y melloco blanco .....	18
3.1.2.	Capacidad antioxidante .....	24
CAPÍTULO 4	.....	28
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	.....	28
4.1.	Conclusiones .....	28
4.2.	Recomendaciones .....	29
MATERIALES DE REFERENCIA	.....	30
Referencias Bibliográficas	.....	30
ANEXOS	.....	36
ANEXO A.	Obtención de harinas de chocho y melloco blanco .....	36
ANEXO B.	Extracción metanólica .....	39
ANEXO C.	Identificación de componentes fenólicos en las harinas de chocho y melloco blanco .....	41
ANEXO D.	Determinación de la actividad antioxidante del chocho y melloco blanco mediante DPPH .....	45
ANEXO E.	Análisis estadístico en el paquete estadístico INFOSTAT .....	49

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Tarwio chocho. A, Planta; B. Vaina con semilla .....	3
<b>Figura 2.</b> Melloco blanco. Plata y tubérculo.....	6
<b>Figura 3.</b> Cromatograma de análisis en HPLC de la harina de melloco blanco a 272 nm.....	19
<b>Figura 4.</b> Cromatograma de análisis en HPLC en la harina de chocho .....	22
<b>Figura 5.</b> Preparación del chocho. A. Chocho pelado; B. Separación de cotiledones.....	36
<b>Figura 6.</b> Preparación del melloco blanco. A. Melloco blanco; B. Corte del melloco blanco en láminas de 2 a 3 mm de diámetro.....	36
<b>Figura 7.</b> Pretratamiento en microondas. A. Chocho; B. Melloco blanco .....	37
<b>Figura 8.</b> Proceso de deshidratación de las muestras a 60 °C durante 8 h.....	38
<b>Figura 9.</b> Producto final; A. Harina de chocho; B. Harina de melloco blanco .....	39
<b>Figura 10.</b> Pesado de muestra para el proceso de macerado con metanol al 98% .....	39
<b>Figura 11.</b> Filtrado del macerado en etanol luego de 24 horas .....	40
<b>Figura 12.</b> Rota evaporado del macerado filtrado.....	41
<b>Figura 13.</b> Equipo de cromatografía líquida de alta resolución.....	41
<b>Figura 14.</b> Inyección de muestras en el cromatógrafo.....	43
<b>Figura 15.</b> Cromatograma del análisis en HPLC de una muestras de ácido gálico al 98% a una concentración de 0,0089376 mg/ml.....	45
<b>Figura 16.</b> Preparación de placa multipocillo.....	45
<b>Figura 17.</b> Placa multipocillo luego de 40 minutos en la oscuridad.....	45
<b>Figura 18.</b> Lectura de absorbancias a 515 nm.....	46

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Taxonomía del chocho.....	4
<b>Tabla 2.</b> Composición química de las especies de chocho .....	4
<b>Tabla 3.</b> Taxonomía del melloco blanco .....	7
<b>Tabla 4.</b> Composición nutricional del melloco blanco en tubérculo y almidón seco...7	
<b>Tabla 5.</b> Material Vegetal.....	11
<b>Tabla 6.</b> Material de laboratorio .....	11
<b>Tabla 7.</b> Reactivos de laboratorio .....	12
<b>Tabla 8.</b> Equipos de laboratorio.....	13
<b>Tabla 9.</b> Insumos y materiales de escritorio .....	13
<b>Tabla 10.</b> Condiciones de operación para el análisis en HPLC .....	15
<b>Tabla 11.</b> Concentración de ácido gálico en harina de chocho y melloco blanco.....	18
<b>Tabla 12.</b> Picos obtenidos en el análisis en HPLC de la harina de melloco blanco ...	20
<b>Tabla 13.</b> Datos de los picos obtenidos en una muestra de melloco blanco.....	21
<b>Tabla 14.</b> Picos obtenidos en el análisis en HPLC de la harina de chocho .....	22
<b>Tabla 15.</b> Capacidad antioxidante en las harinas de chocho y melloco blanco .....	23
<b>Tabla 16.</b> Datos para el análisis del estándar en HPLC .....	24
<b>Tabla 17.</b> Picos obtenidos de la corrida del estándar (Ac. gálico) .....	42
<b>Tabla 18.</b> Datos para el análisis de la harina de chocho ( <i>Lupinus mutabilis sweet</i> ) y melloco blanco ( <i>Ullucus tuberosus</i> ) en HPLC .....	42
<b>Tabla 19.</b> Porcentaje de inhibición del Trolox a diferentes concentraciones.....	44
<b>Tabla 20.</b> Absorbancias obtenidas en el ensayo de radicales DPPH en chocho ( <i>Lupinus mutabilis sweet</i> ) .....	46
<b>Tabla 21.</b> Absorbancias obtenidas en el ensayo de radicales DPPH en el melloco blanco ( <i>Ullucus tuberosus</i> ).....	47
<b>Tabla 22.</b> Cuadro de análisis de la varianza para la absorbancia (SC Tipo III).....	48
<b>Tabla 23.</b> Prueba de Tukey para las absorbancias obtenidas en el chocho y melloco blanco.....	49
<b>Tabla 24.</b> Cuadro de análisis de la varianza para el % Inhibición (SC Tipo III).....	49
<b>Tabla 25.</b> Prueba de Tukey para el % Inhibición obtenidas en el chocho y melloco blanco.....	50

## RESUMEN

La desnutrición ha incrementado en los últimos años dentro del país. Afectando principalmente a niños y ancianos. La desinformación de las cualidades y propiedades que tienen los cultivos andinos cotidianos como el chocho y el melloco blanco es uno de los principales motivos del desaprovechamiento de los mismos y, por ende, contribuye al incremento de desnutrición en el país. La presente investigación se centra en la determinación de componentes fenólicos presentes en el chocho y melloco blanco mediante técnicas ópticas como el HPLC acoplado a un espectrofotómetro UV-VIS, mediante el cual se ha determinado la presencia de componentes como el ácido gálico en ambas muestras. Además, en el caso del melloco blanco se pudo determinar que existen flavonoides como la rutina, que posee propiedades antiinflamatorias. Y para el chocho, se pudo determinar la presencia de ácido p-cumárico.

Posteriormente se determinó la capacidad antioxidante mediante el método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo). Mediante esta técnica se determinó que las harinas de chocho y melloco blanco poseen un porcentaje de inhibición de radicales DPPH de 12,56 y 86,96 por ciento respectivamente.

Finalmente se relacionó los datos obtenidos con la importancia de la inclusión de estos cultivos en la formulación de alimentos funcionales para que sean incluidos en la dieta del consumidor.

**Palabras claves:** *Lupinus mutabilis sweet*, *Ullucus tuberosus*, Cromatografía líquida de alta resolución, capacidad antioxidante, cultivos andinos, alimentos funcionales.

## ABSTRACT

Desnutrition has increased in recent years within the country. Mainly affecting children and older adults. The disinformation about the qualities and properties of daily Andean crops such as chocho and melloco blanco is one of the main reasons why they are wasted and, therefore, contributes to the increase of malnutrition in the country. The present research focuses on the determination of phenolic components present in chocho and melloco blanco by means of optical techniques such as HPLC coupled to a UV-VIS spectrophotometer, through which the presence of components such as gallic acid has been determined in both samples. In addition, in the case of melloco blanco, it was possible to determine the presence of flavonoids such as rutin, which has anti-inflammatory properties. And for the chocho, it was possible to determine the presence of p-coumaric acid.

Subsequently, the antioxidant capacity was determined by the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method. With this technique it was determined that chocho's and melloco blanco's flour have a inhibition percentage of DPPH radicals of 12.56 and 86.96 percent respectively.

Finally, the data obtained were related to the importance of the inclusion of these crops in the formulation of functional foods so that they can be included in the consumer's diet.

**Key words:** *Lupinus mutabilis sweet*, *Ullucus tuberosus*, high performance liquid chromatography, antioxidant capacity, andean crops, functional foods.

# CAPÍTULO 1

## MARCO TEÓRICO

### 1.1. Antecedentes investigativos

#### 1.1.1. Soberanía alimentaria en Ecuador

El concepto de soberanía alimentaria ha surgido en las últimas dos décadas como una propuesta alternativa al sistema alimentario global neoliberal, proponiendo devolver más control sobre los sistemas alimentarios a los pequeños agricultores (denominados campesinos o campesinas) y a otros productores de alimentos de subsistencia y en pequeña escala (pescadores, pastores, pueblos indígenas, etc.). (Clark, 2016).

En la nueva Constitución, Ecuador colocó la cuestión agroalimentaria en un horizonte alternativo al régimen alimentario corporativo, priorizando la garantía del derecho universal a la alimentación. De esta forma, se ha planteado la centralidad de los sistemas alimentarios locales y el reconocimiento de un papel protagónico de la agricultura en pequeña escala. (Giunta, 2018).

La soberanía alimentaria se ve reflejado en los Objetivos del desarrollo sostenible. El objetivo 2 (Hambre cero) busca lograr la seguridad alimentaria y una mejor nutrición y promover la agricultura sostenible. A día de hoy, la producción de alimentos es más que suficientes para alimentar a la población. Sin embargo, la desnutrición ha prevalecido enormemente, es por ello que se registran hasta 828 millones de personas con desnutrición crónica en países desarrollados y en desarrollo. Otro problema que ha ido en incremento es la obesidad y el sobrepeso, y es que más de 2 millones de adultos, adolescentes y niños ahora lo padecen. Las consecuencias son graves tanto, para la salud pública como para la riqueza nacional y la calidad de vida de las personas y las comunidades. (FAO, 2022).

#### **1.1.1.1. Seguridad alimentaria**

La seguridad alimentaria busca que cada miembro de una familia, tenga acceso a los alimentos suficientes para llevar una vida activa y saludable. La capacidad de adquirir esos alimentos debe ser de formas socialmente aceptables, es decir, sin recurrir a suministros de alimentos de emergencia, buscar en la basura, robar u otras estrategias de afrontamiento. (USDA, 2020).

#### **1.1.1.2. Seguridad nutricional**

Es el acceso constante, la disponibilidad y la asequibilidad de alimentos y bebidas que promueven el bienestar, previenen enfermedades y, si es necesario, tratan enfermedades, particularmente entre minorías raciales/étnicas, de bajos ingresos y poblaciones rurales y remotas, incluidas las comunidades tribales y Zonas insulares. (USDA, 2020).

### **1.1.2. Cultivos Andinos en el Ecuador**

#### **1.1.2.1. Chocho**

##### **1.1.2.1.1. Generalidades**

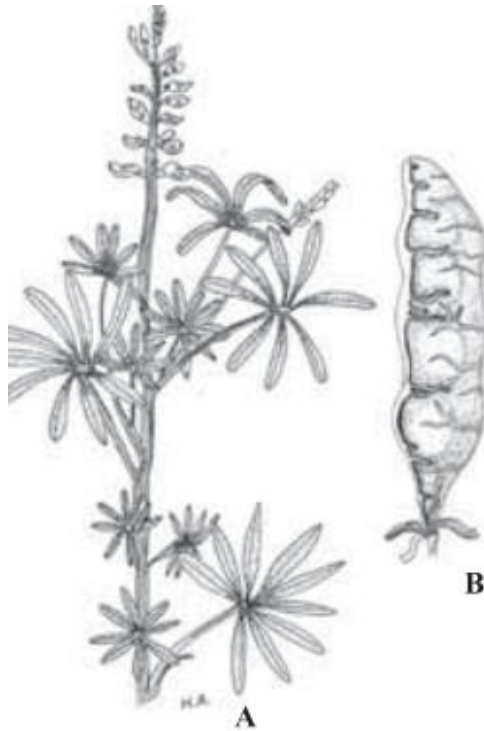
En Ecuador, Perú y Colombia se lo conoce como chocho. Es una especie generalmente anual. Se caracteriza por su crecimiento erecto, que puede llegar a medir de 0,8 hasta 2 metros de altura. (Tapia & Fries, 2007).

Se distribuye en un amplio rango de condiciones climáticas, desde la región subártica hasta climas semidesérticos y subtropicales, así como desde el nivel del mar hasta ecosistemas alpinos. (Abraham et al., 2019).



**Figura 1.**

*Tarwi o chocho. A, Planta; B. Vaina con semilla*



**Fuente:** (Tapia & Fries, 2007)

**1.1.2.1.2. Usos**

Las especies de lupino tienen una amplia distribución geográfica y su uso ha incrementado, pues pueden servir como ornamento, fines agrícolas, ya que ayuda a fertilizar el suelo, nutricionales y médicos. Al igual que con otras legumbres, las semillas de lupino tienen un alto contenido de fibra y proteínas y podrían beneficiar a la dieta humana. (Knecht, Sanchez, & Kinder, 2020). En varios países, se usa al chocho como un sustituto de la soja, pues ofrece una variedad de proteínas que benefician en la alimentación de animales. (Abraham et al., 2019).

### 1.1.2.1.3. Taxonomía

**Tabla 1.**

*Taxonomía del chocho*

<b>Nombre científico</b>	<i>Lupinus mutabilis</i>
<b>Reino</b>	Plantae
<b>Filo</b>	Traqueofita
<b>Clase</b>	Magnoliopsida
<b>Orden</b>	Fabales
<b>Familia</b>	Fabáceas
<b>Genero</b>	Lupino
<b>Especie</b>	Lupinis mutabilis

**Fuente:** (United States Department of Agriculture, 2022a)

### 1.1.2.1.4. Composición química

El valor nutritivo del chocho, varía dependiendo de la especie, genotipo y ubicación en donde fueron sembradas. en la siguiente tabla se aprecia los componentes nutricionales que poseen algunas de ellas.

**Tabla 2.**

*Composición química de las especies de chocho*

	<i>L. albus</i>	<i>L. angustifolius</i>	<i>L. luteus</i>	<i>L. mutabilis</i>
Proteína Bruta (% de MS)	33–47	31–37	37–38	32–52
Fibra bruta (% de MS)	13–16	15-17	12–15	10
Energía Metabolizada (MJ/kg MS)	13–16	12–13	10	n / A
Aceite (%)	6–13	6–7	5–9	13–24

	<i>L. albus</i>	<i>L. angustifolius</i>	<i>L. luteus</i>	<i>L. mutabilis</i>
<b>Oligosacáridos</b>				
totales (% de MS)	7–8	8–9	n / A	n / A
<b>Polisacáridos no amiláceos (%)</b>				
	18	47–51	n / A	n / A
<b>Aminoácidos esenciales (g/16 gN)</b>				
Lys	4.9–5.1	4,5–5,0	4.2–4.6	5,0–7,3
Cis	1.8–2.1	1.3–1.6	1.8–2.5	1.4–1.7
Leu	7,5–8,0	6,0–7,6	6.1–7.3	5.7–7.8
Thr	3.1–4.0	3,0–3,3	2.6–3.2	3,0–4,0
n/A: no disponible				

**Fuente:** (Abraham et al., 2019)

#### 1.1.2.1.5. Valor nutricional

La semilla del lupino posee grandes cantidades de proteínas y elevado contenido de grasas, cuyo consumo adecuando optimiza el desarrollo del cuerpo y nuestro sistema nervioso central (Suca, 2015). El chocho desamargado posee un 10,37 % de fibra, concentrada mayormente en la cascara. Esto ayuda a prevenir enfermedades como el estreñimiento o la obesidad, pues da una sensación de llenura y evita que una persona se exceda en la comida. (Villarino, et.al., 2015). La cáscara también posee una cantidad beneficiosa de calcio y fósforo (Santana, 2017).

Gracias al alto contenido de calcio, el sistema óseo se ve beneficiado, pues este mineral asegura el crecimiento adecuado de los huesos y ayuda a mantener la solidez de los mismos. El fósforo también ayuda a mantener el sistema óseo, actividad del músculo cardíaco y producir

energía. El hierro por su parte, facilita la producción de hemoglobina, el transporte del oxígeno e incrementa la resistencia a las enfermedades. (MAGAP, 2019).

### 1.1.2.2. Melloco blanco

#### 1.1.2.2.1. Generalidades

Este cultivo es conocido como ulluku en Perú y Bolivia; melloco en Ecuador; chigua en Colombia y ruba en Venezuela. Su cultivo se lleva a cabo en varios países de Latinoamérica, distribuido desde Venezuela hasta Argentina. A pesar de que se adapta a altitudes de 4000 msnm, su producción se ve favorecida entre 3600 y 3800 msnm, donde las temperaturas no son muy bajas. Sin embargo, existen variedades que pueden resistir una helada. (Tapia & Fries, 2007).

La altura que la planta de olluco puede alcanzar es de 20 a 40 cm, con follaje compacto de un color verde intenso; la forma de las hojas es acorazonada. En cuanto a la forma pueden ser cilíndricas, ovoides o esféricas y van de pequeños tubérculos a aquellos que se asemejan a una papa grande. (Tapia & Fries, 2007).

#### *Figura 2.*

Melloco blanco. Plata y tubérculo



**Fuente: (Tapia & Fries, 2007)**

#### 1.1.2.2.2. Usos

El melloco blanco puede ser usado en la industria alimenticia para aprovechar todo su potencial nutricional. Así mismo, tiene el área de medicina, puede hacer usos de las propiedades cicatrizantes y desinflamatorias del cultivo, que pueden ayudar a curar traumatismos internos y externos. (Ministerio de Cultura y Patrimonio, 2015).

#### 1.1.2.2.3. Taxonomía

**Tabla 3.**

*Taxonomía del melloco blanco*

<b>Nombre científico</b>	<i>Ullucus tuberosus</i>
<b>Reino</b>	Plantae
<b>Filo</b>	Traqueofita
<b>Clase</b>	Magnoliopsida
<b>Orden</b>	Cariófilos
<b>Familia</b>	Baseláceas
<b>Genero</b>	Ullucus
<b>Especie</b>	Ullucus tuberosus

**Fuente:** (United States Department of Agriculture, 2022b)

#### 1.1.2.2.4. Composición química

**Tabla 4.**

*Composición nutricional del melloco blanco en tubérculo y almidón seco*

<b>Contenido</b>	<b>Tubérculo</b>	<b>Almidón</b>
Proteína	8,06 ± 0,07	-
Lípidos	0,65 ± 0,01	0,08 ± 0,00
Fibra soluble	6,49 ± 0,41	0,00
Fibra insoluble	7,22 ± 0,21	-
Azúcar total	5,26 ± 0,35	-

Almidón	64,96 ± 1,97	99,05 ± 1,49
Amilosa	-	26,49 ± 0,86
Residuos minerales	5,40 ± 0,20	0,17 ± 0,01

**Fuente: (Valcárcel, Rondán, & Finardi, 2013)**

#### **1.1.2.2.5. Valor nutricional**

El melloco blanco tiene propiedades curativas, como la cicatrización de heridas internas y/o externas. Así mismo, ayuda a prevenir y tratar enfermedades que afectan la próstata. **(Ministerio de Cultura y Patrimonio, 2015).**

#### **1.1.3. Componentes fenólicos**

En el reino vegetal, los componentes fenólicos (CF), representan el segundo grupo más abundante, detrás de la celulosa. Sirven de soporte estructural y protección contra la radiación solar ultravioleta, estrés biótico o abiótico, patógenos, herbívoros, etc. También posee un papel importante en la salud, pues para los consumidores, estos componentes fenólicos brindan protección contra enfermedades como cáncer, diabetes, obesidad, entre otros, no solo por su actividad antioxidante, pues son encargados de diferentes procesos como la inhibición enzimática, modificación de la expresión génica, la fosforilación de proteínas, etc. **(De la Rosa et al., 2019).**

Los atributos de calidad de la planta también están relacionados con los CF, pues muchos de ellos otorgan cualidades como el amargor, el color y el sabor. Se ha descrito que diferentes tratamientos precosecha y poscosecha pueden inducir la síntesis de CFs y aumentar la vida útil de frutas y hortalizas, mediante la activación de su sistema de defensa antioxidante. **(De la Rosa et al., 2019).**

##### **1.1.3.1. Identificación de componentes fenólicos por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)**

La HPLC es una técnica rápida utilizada para el análisis y separación de mezclas. Gracias a los avances tecnológicos se ha logrado analizar una amplia gama de analitos con eficiencia y precisión. **(Suarez & Morales, 2018).**

En este método participan una fase móvil y una estacionaria, las cuales son inmiscibles entre sí, y la muestra de interés. La fase móvil (líquida) es la encargada de llevar la muestra a través de la fase estacionaria (sólida o una película líquida soportada en un sólido inerte). La retención y separación de los componentes de una muestra están determinados por las fuerzas químicas y físicas que actúan entre la mezcla a analizar y las dos fases. La afinidad de los componentes con la fase estacionaria es inversamente proporcional a la velocidad se desplazarán. Es ahí, cuando la separación de los componentes se lleva a cabo. **(Suarez & Morales, 2018).**

### **1.1.3.2. Capacidad antioxidante**

Los antioxidantes son moléculas que pueden contrarrestar los radicales libres y especies que reaccionan al oxígeno, lo cual ayuda a retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas. La capacidad antioxidante total (CAT) se define como el potencial de una sustancia o compuesto para inhibir o retrasar la oxidación de un sustrato hasta en cantidades muy pequeñas. La determinación de la capacidad antioxidante es muy útil para medir la calidad de un alimento, la cantidad de antioxidantes en un sistema, o la biodisponibilidad de compuestos antioxidantes en el cuerpo humano. **(Benítez-Estrada et al., 2020).**

## **1.2. Objetivos**

### **1.2.1. Objetivo General**

Establecer la capacidad antioxidante y componentes fenólicos presentes en chocho y melloco blanco.

### **1.2.2. Objetivos Específicos**

- Identificar los compuestos fenólicos de la harina de chocho (*Lupinus mutabilis*) y melloco blanco (*Ullucus tuberosus*) mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).
- Analizar la capacidad antioxidante de la harina del chocho (*Lupinus mutabilis*), melloco blanco (*Ullucus tuberosus*) por el método del 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)
- Establecer la relación de componentes fenólicos y antioxidantes como elementos nutritivos en la dieta de los consumidores



## CAPÍTULO 2

### METODOLOGÍA

#### 1.1. Ubicación del lugar del experimento

La fase experimental se llevó a cabo en la Universidad Técnica de Ambato, en los laboratorios Académicos y UOIDE de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología. El análisis cromatográfico se realizó en el Laboratorio Ecuachemlab, en la ciudad de Quito.

#### 1.2. Muestreo y sus criterios

Las muestras fueron obtenidas en el Mercado Mayorista de Ambato

#### 1.3. Preparación de muestras

La preparación de las muestras fue hecha en los Laboratorios Académicos y UODIDE de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

#### 1.4. Materiales

##### Tabla 5.

*Material Vegetal*

MATERIAL VEGETAL	CANTIDAD (lb)
Chocho	7
Meloco blanco	20

Elaborado por: (Suárez, 2023)

##### Tabla 6.

*Material de laboratorio*

MATERIAL	CANTIDAD
Probeta (100 ml)	1
Tubos eppendorf (50 ml)	5
Vasos de precipitación (250 ml)	3
Espátula	1

Micropipeta 20 – 200 µl	1
Micropipeta 100 – 1000 µl	1
Puntas para micropipetas 20 – 200 µl	20
Puntas para micropipetas 100 – 1000 µl	20
Gradilla	2
Placa de 96 pocillos	6

**Elaborado por: (Suárez, 2023)**

**Tabla 7.**

*Reactivos de laboratorio*

<b>REACTIVOS</b>	<b>CASA COMERCIAL</b>	<b>CANTIDAD</b>
Metanol (96%)	Casa del Químico – Ambato	1 galón
DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo)	Espectrocrom – Guayaquil	1 frasco
Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico)	Espectrocrom – Guayaquil	1 frasco
Agua destilada	FCIAB	1 galón
Acido gálico (99%)	Laboratorio Cevallos – Guayaquil	1 frasco
Alcohol etílico (70%)	Casa del Químico – Ambato	1 frasco
Ácido fórmico (0,1%)	Espectrocrom – Guayaquil	1 frasco
Acetonitrilo (100%)	Espectrocrom – Guayaquil	1 frasco

**Elaborado por: (Suárez, 2023)**

**Tabla 8.***Equipos de laboratorio*

<b>EQUIPOS</b>	<b>CANTIDAD</b>
Balanza analítica	1
Rotavapor	1
Bomba al vacío	1
Espectrofotómetro	1
Refrigerador	1
Deshidratador	1
Triturador de alimentos	1

**Elaborado por: (Suárez, 2023)****Tabla 9.***Insumos y materiales de escritorio*

<b>INSUMOS Y MATERIALES</b>	<b>CANTIDAD</b>
Cofias	Caja x 100 unidades
Mascarillas	Caja x 100 unidades
Guantes de nitrilo	Caja x 100 unidades
Papel filtro	1 pliego
Papel aluminio	2 rollos
Fundas ziploc	Caja x 50 unidades
Lavavajilla	1
Computadora	1
Cámara fotográfica	1
Esferos	3 unidades
Rotulador	1
Cinta adhesiva	1
Bitácora	1

**Elaborado por: (Suárez, 2023)**

## **1.7. Métodos**

### **1.7.1. Obtención y preparación de la muestra**

La materia prima fue adquirida en el Mercado Mayorista de Ambato, 7 y 20 libras de chocho desamargado y melloco blanco respectivamente. Estos fueron trasladados a los laboratorios Académicos de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología. Los granos del chocho (*Lupinus mutabilis sweet*) se lavaron con abundante agua para eliminar impurezas. Los tubérculos del melloco blanco (*Ullucus tuberosus*) se los lavó exhaustivamente para eliminar la tierra, raíces y ese moco característico de ellos.

### **1.7.2. Obtención de las harinas**

Las harinas utilizadas para la determinación de componentes fenólicos y antioxidantes corresponden a las procesadas en el proyecto de investigación al cual corresponde esta tesis.

Para la obtención de estas harinas se llevó a cabo el proceso descrito por **Salazar, (2021)**, con algunas modificaciones. Se hicieron cortes en láminas de entre 2 y 3 mm de espesor del melloco blanco y el chocho fue dividido en sus dos cotiledones. Las láminas y los cotiledones fueron sometidos a un pre-tratamiento en un microondas por 20 segundos para luego ser sometidos a un choque térmico en agua fría. Posteriormente se colocó las láminas de melloco blanco y los cotiledones del chocho en mallas metálicas para ser sometidas a un proceso de secado en un Deshidratador (CABELAS) a 150 °C durante 8 horas. Una vez secas las muestras, se las trituro y pulverizó. Se pasó el polvo por un cernidor para eliminar los grumos. Finalmente, las harinas fueron colocadas en bolsas ziploc de aluminio en cantidades de 100 g por funda y se almacenó a temperatura ambiente en la oscuridad hasta su análisis.

### **1.7.3. Análisis HPLC de compuestos fenólicos**

Los análisis cromatográficos se realizaron en el Laboratorio Ecuachemlab en la ciudad de Quito. La metodología base para el análisis fue descrito por **Kardani et al. (2013)**. Se realizaron algunas modificaciones.

### 1.7.3.1. Preparación de solución estándar (Ácido gálico)

Se pesaron 22,8 mg de ácido gálico (98 %) y se diluyó con Agua: Metanol (90:10) en un balón de aforo de 25ml. Se llevó a Ultrasonificación por 5 min para eliminar burbujas. Por último, se realizó una dilución 1/100 para obtener una solución stock de 0,0089376 mg/ml.

### 1.7.3.2. Preparación de las soluciones de harina de chocho y melloco blanco

Se pesaron 3371,9 y 3325,8 mg de harina de chocho y melloco blanco, respectivamente. Estas se diluyeron con Agua: Metanol (90:10) en un balón de aforo de 50 ml. Las soluciones fueron expuestas a Ultrasonificación por 15 min (con agitación cada 5 min) para eliminar burbujas. Finalmente, se hizo una dilución 1/100.

### 1.7.3.3. Condiciones de cromatografía

Las muestras fueron analizadas en un equipo HPLC conectado a un Detector UV-VIS (PERKIN ELMER). Las condiciones utilizadas para el análisis cromatográfico de las harinas de chocho y melloco blanco están expresadas en la **Tabla 10**.

**Tabla 10.**

*Condiciones de operación para el análisis en HPLC*

<b>Flujo de inyección (ml/min)</b>	0,5
<b>pH</b>	3
<b>Columna</b>	RP-18 endcapped (5µm)
<b>Fase móvil</b>	Agua:Acetonitrilo (90:10)
<b>Tiempo de corrida</b>	45 min
<b>Voltaje</b>	272 nm
<b>Temperatura</b>	Ambiente
<b>Modo de operación</b>	Elusión isocrática

**Fuente: (Kardani, Gurav, Solanki, Patel, & Patel, 2013)**

#### **1.7.4. Extracto metanólico**

Para la extracción metanólica se tomó como referencia la metodología de **Dueñas, et.al, (2019)** y **Pacheco, et.al, (2019)**, con algunas modificaciones. Se tomaron 10 g de la harina y se diluyó en 250 ml de metanol por 24 horas a temperatura ambiente. Posteriormente, se realizó una filtración del macerado mediante una bomba al vacío. Finalmente, se los rota evaporó (IKA HB 100; EYELA 05b-2100) para reducir la cantidad de metanol de las muestras y fueron almacenados en tubos de centrifuga a 4 °C hasta su posterior uso.

#### **1.7.5. Capacidad antioxidante**

Se utilizó la metodología de captación de radicales libres de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) propuesta por **Bobo et al., (2015)**, teniendo en cuenta algunas modificaciones.

##### **1.7.5.1. Preparación del reactivo DPPH y Trolox**

Para obtener la solución madre de DPPH a 150  $\mu\text{M}$  se preparó una solución metanol-agua en proporciones de 80:20. Se tomó 100 ml de esta solución para disolver 0,0059 g de DPPH. La solución fue cubierta de la luz y agitada por aproximadamente 30 min. Esta fue almacenada en refrigeración hasta su posterior uso.

Para obtener la solución madre de Trolox a 500  $\mu\text{M}$ , se preparó 100 ml de solución metanol-agua (50:50) para disolver 0,0125 g del reactivo Trolox y se agitó.

##### **1.7.5.2. Medición de la actividad antioxidante**

En una placa de 96 pocillos se preparó la matriz de estudio que consistió en:

**Blanco:** 180  $\mu\text{l}$  del diluyente DPPH (metanol-agua, 80:20) + 20  $\mu\text{l}$  agua destilada

**Control:** 180  $\mu\text{l}$  de la solución DPPH + 20  $\mu\text{l}$  metanol

**Extracto (chocho y/o melloco blanco):** 180  $\mu\text{l}$  de la solución DPPH + 20  $\mu\text{l}$  extracto

La preparación de la matriz se llevó a cabo en la oscuridad. Al terminar de colocar cada solución en los pocillos, se tapó la placa con papel aluminio y se dejó actuar por 40 minutos en la oscuridad y a temperatura ambiente. Por último, se midió la absorbancia en un espectrofotómetro a 515 nm.

### **1.7.5.3. Determinación del porcentaje de inhibición de DPPH**

El porcentaje de inhibición fue calculado haciendo uso de la Ecuación 1.

$$\% \text{ Inhibición DPPH} = \left[ 1 - \left( \frac{A_m - A_b}{A_c - A_b} \right) * 100 \right]$$

**Ecuación 1.** Porcentaje de inhibición de DPPH

**Donde:**

$A_m$ : Absorbancia de la muestra

$A_b$ : Absorbancia del blanco reactivo

$A_c$ : Absorbancia del control

### **1.7.6. Análisis estadístico**

Se realizó un ANOVA y una prueba de comparación múltiple de Tukey con un nivel de significancia del 95%,  $p < 0.05$  mediante el paquete estadístico INFOSAT.

## CAPÍTULO 3

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 2.1. Análisis y discusión de los resultados

##### 2.1.1. Análisis cromatográfico de las harinas de chocho y melloco blanco

El HPLC al ser un método óptico, se pudo obtener diferentes picos que se supone, pueden pertenecer a otros componentes fenólicos (Suarez & Morales, 2018). Este es el caso del ácido gálico en las harinas de chocho y melloco blanco, cuyas concentraciones se detallan en la **Tabla 11**.

**Tabla 11.**

*Concentración de ácido gálico en harina de chocho y melloco blanco*

Muestra	Concentración (mg/kg)
Chocho	0,54
Melloco Blanco	60,28

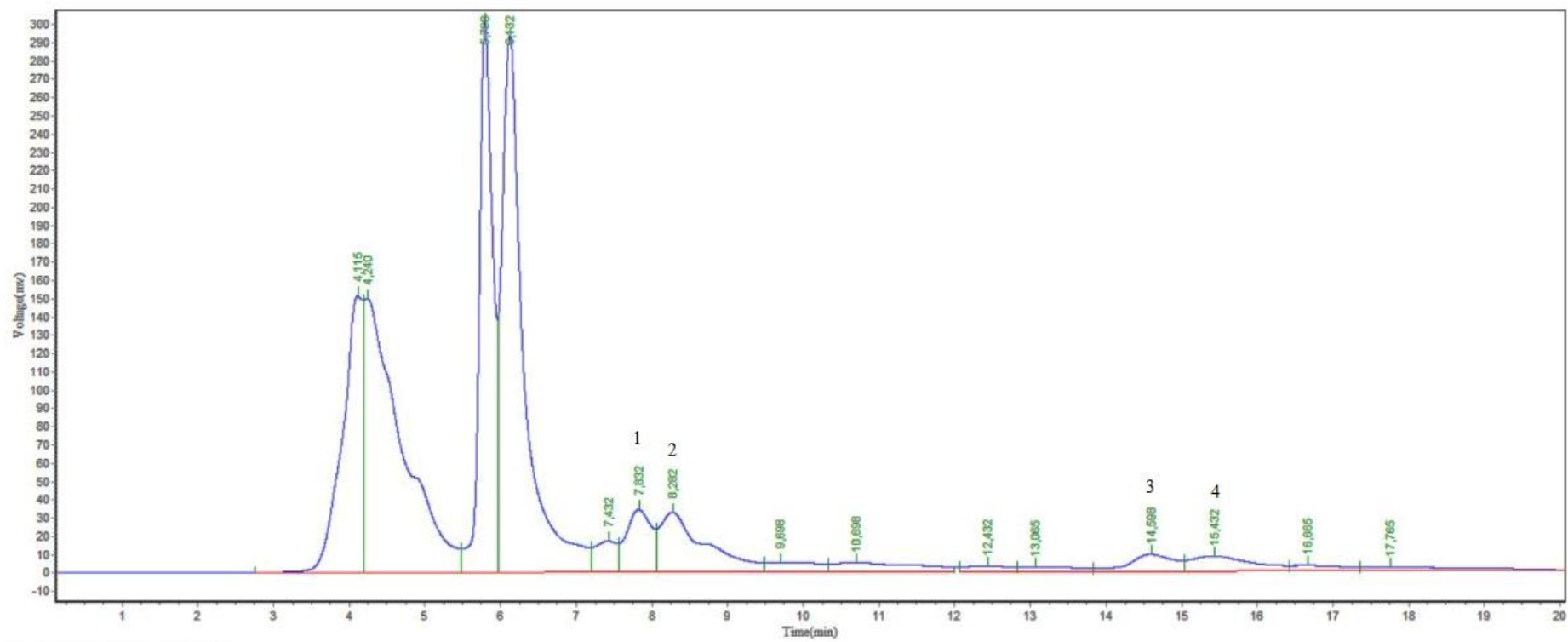
**Elaborado por: (Suárez, 2023)**

Para establecer una referencia del tiempo de retención (Rt) del ácido gálico en las muestras de harina de chocho y melloco blanco se corrió una solución de ácido gálico (98%) a una concentración de 0,0089376 mg/ml en el HPLC siguiendo la metodología descrita por (Kardani et al., 2013) con algunas modificaciones. El Rt obtenido de este ensayo fue de 7,890 min para el ácido gálico (**ANEXO C; Figura 15**).



**Figura 3.**

*Cromatograma de análisis en HPLC de la harina de melloco blanco a 272 nm*



Elaborado por: (Suárez, 2023)

En la **Figura 3** se pueden observar varios picos y tiempos de retención. El software detectó un total de 15 picos. Sin embargo, para este estudio se tomó en cuenta 4 de ellos, como se puede observar en la **Tabla 12**. Los 4 picos elegidos, fueron los que poseen una buena distribución y área. Pues aquellos picos superpuestos y aquellos que no son altamente detectables como se ve el grafico 3, generan una incertidumbre mayor a la hora de identificarlos. Así mismo se tomó en cuenta la relación señal-ruido que posee el equipo en sí.

**Tabla 12.**

*Picos obtenidos en el análisis en HPLC de la harina de melloco blanco*

<b>Pico</b>	<b>Rt (min)</b>
1	7,832
2	8,282
3	14,598
4	15,432

**Elaborado por: (Suárez, 2023)**

El único pico definido con seguridad es el 1, el cual corresponde al ácido gálico con Rt de 7,822 min, pues al comparar los cromatogramas, ambos picos poseen Rt similares. Los picos restantes pueden pertenecer a otros ácidos fenólicos.

**Pacheco et.al., (2019)**, realiza un análisis cromatográfico en donde usa como fase móvil acetonitrilo y ácido fórmico en agua. Su fase estacionaria es una columna C8 y se utiliza un caudal de 0,5 ml\*min<sup>-1</sup>. Así mismo, la lectura se realizó en un rango de 280 nm y 370 nm. Estas condiciones coinciden con las nuestras en su mayoría por lo cual se puede tomar como referencia sus resultados. En la **Tabla 13** se puede observar con más detalle los compuestos encontrados por dichos investigadores.

**Tabla 13.**

*Datos de los picos obtenidos en una muestra de melloco blanco*

<b>Pico</b>	<b>Rt (min)</b>	<b>Identificación tentativa</b>
1	10,9	Derivados de ácido ferúlico
2	11,83	Triptófano
3	15,99	Quercetina-3-O-rutinósido (Rutina)
4	17,99	Kaempferol-O-ramnósido-rutinósido
5	18,41	Isorhamnetin-O-dirhamnosylhexoside
6	20,28	Kaempferol-3-rutinósido
7	21,03	Ácido ferúlico
8	23,86	Acetilramnosilhexósido de kaempferol
9	24,12	Isorhamnetina 3-rutinósido

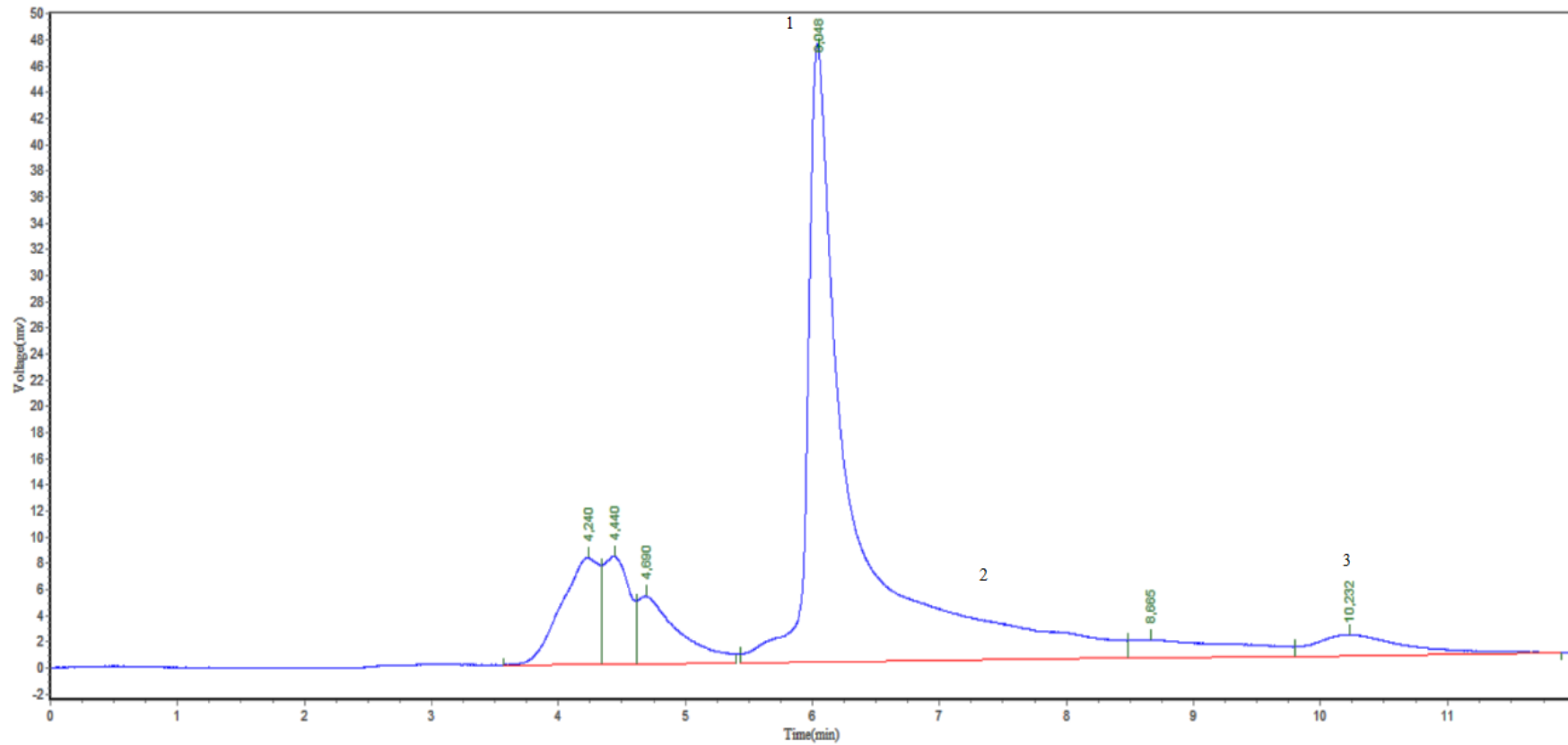
**Fuente: (Pacheco, et.al, 2019)**

En dicha investigación se menciona que el contenido fenólico del melloco blanco está constituido principalmente por el kaempferol-O-ramnósido-rutinósido seguido de la rutina, cuyo pico se asemeja al pico 4 en nuestro cromatograma y por el ácido ferúlico.

Debido a la escases de estudios referentes al melloco blanco se ha tomado en cuenta diferentes estudios hechos en tubérculos propiedades similares y calidad nutricional relativamente igual, tal es el caso de la mashua. **Chirinos et.al., (2008)**, realizó un análisis cromatográfico en el que utilizó una fase estacionaria similar a la nuestra. Así mismo, se trabajó a un pH de 2,5 y con una longitud de onda de 280 nm, condiciones que está relativamente cerca del valor usado en nuestro estudio (pH=3; longitud de onda: 272 nm). En dicha investigación se menciona que existen componentes fenólicos como el ácido cumárico, rutina, derivados del ácido cinámico y ácido gálico.

**Figura 4.**

*Cromatograma de análisis en HPLC en la harina de chocho*



Elaborado por: (Suárez, 2023)

Así mismo, la semilla del chocho posee una gran cantidad de ácidos fenólicos. Se estima que los picos observados en la **Figura 4** pertenecen a algunos de ellos. Se conoce que los principales compuestos fenólicos presentes en las semillas de lupino pertenecen a las subclases de ácidos fenólicos, flavonas e isoflavonas (**Karamac et al., 2018**).

**Tabla 14.**

*Picos obtenidos en el análisis en HPLC de la harina de chocho*

<b>Pico</b>	<b>Rt (min)</b>
1	6,048
2	7,875
3	10,232

**Elaborado por: (Suárez, 2023)**

El ácido gálico pudo ser determinado en la harina en un tiempo de retención de 7,875 min al comparar con el cromatograma del estándar. Estudios realizados en diferentes matrices del chocho, se determinó la presencia de derivados de apigenina con RT de 26,760 y 27,378 min. (**Czubinski, Grygier & Siger, 2021**). Así mismo **Karamac et.al., (2018)** al realizar un análisis cromatográfico de extracto de chocho lograron obtener 3 picos, estos pertenecientes a glucósidos del ácido p-cumárico (1 y 2) y apigenina-6,8-di-C-glucósido con RT de 10,5, 12,8 y 21,5 respectivamente. A partir de estos datos, se puede suponer que existen glucósidos del ácido p-cumárico.

### 3.1.2. Capacidad antioxidante

En la **Tabla 15** se presenta la capacidad antioxidante del chocho (*Lupinus mutabilis sweet*) y melloco blanco (*Ullucus tuberosus*), mediante el poder reductor del 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH). El ANOVA demuestra la existencia de diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre estas matrices, siendo el melloco blanco el que posee mayor % de inhibición.

**Tabla 15.**

*Capacidad antioxidante en las harinas de chocho y melloco blanco*

<b>Matriz</b>	<b>Absorbancia</b>	<b>% Inhibición</b>	<b>μmol Equivalente Trolox/g</b>
Harina de chocho	0,47±0,03 <sup>a</sup>	12,56 ± 5,53 <sup>b</sup>	2,31 ± 0,43
Harina de melloco blanco	0,11±0,01 <sup>b</sup>	86,96 ± 0,01 <sup>a</sup>	12,40 ± 0,26

**Elaborado por: (Suárez, 2023)**

*Nota: Los valores de la absorbancia y del % de inhibición de DPPH que se presentan en la tabla es la media de 5 repeticiones. Mientras que, los valores expresados en μmol Equivalente Trolox/L es la media de 2 repeticiones y su desviación estándar. Se realizó un ANOVA con la prueba de comparación Tukey ( $p > 0,05$ ) tanto para las absorbancias como para % de inhibición.*

Según los resultados del presente estudio, el chocho posee un porcentaje de inhibición del 12,56 %, que equivale a 2,31 μmol Eq. Trolox/g, lo que significa que si posee actividad antioxidante. **Córdova et.al (2020)** en un estudio similar en donde se trabajó con chocho en diversas matrices, obtuvo valores de 2,26 – 5,39 μmol Trolox/g b.s, valores muy similares a los obtenidos en nuestro estudio.

Por otro lado, **Pérez et.al., (2019)**, describe en su estudio que el chocho posee  $87.36 \pm 18.55$  μmol Eq. Trolox/g peso fresco, y se reportó valores altos de ácido acético (2,33 g/100 g FW) y ácido cítrico (1,24 g/100 g FW) que le dan esa

capacidad antioxidante a la planta. Una investigación, en donde la matriz de estudio fue una bebida vegetal de chocho, nos dan una referencia de la capacidad antioxidante, en donde las muestras de chocho desamargado contiene menos capacidad antioxidante que el chocho amargo (Córdova et al., 2020), llegando a la conclusión que en el proceso de desamargado, se pierden parte de los fitoquímicos por acción del calor (Amaya Beltrán, 2021). Así también, Arellano, (2022), menciona que el extracto de harina de chocho desamargado (sin alcaloides) posee una actividad antioxidante menor al obtenido con el chocho amargo, otorgando a dichos resultados a la reducción de polifenoles de la muestra durante el proceso de desamargado, ya que muchos de ellos son solubles en agua y, por lo tanto, se eliminaron durante los lavados. Por lo tanto, al haber utilizado semillas de chocho desamargadas, se puede suponer que esa es la razón por el cual nuestro % de inhibición es baja en comparación a los expuestos anteriormente.

En cuanto a la capacidad antioxidantes del melloco blanco, el porcentaje de inhibición obtenido en este estudio fue de 86,96 % que equivale a 12,40  $\mu\text{mol}$  Eq. Trolox/g. Se encontraron diferentes trabajos en donde mediante la técnica DPPH, se determinó un porcentaje de actividad antioxidante, entre 18,89 y 60,96%, en las diferentes partes de las plantas de ulluco. (Mejía et.al., 2018). Zavaleta et al. (2005), también determinó que el melloco blanco posee un porcentaje de inhibición de 27,62%.

Los porcentajes de inhibición, tanto en el chocho como en el melloco blanco, varían mucho con los encontrados bibliográficamente, y es que, la cantidad de ácidos orgánicos presentes en las partes carnosas de los frutos de diferentes especies puede variar mucho, al igual que la abundancia relativa de los ácidos orgánicos individuales. Además, su contenido depende del estado de desarrollo del fruto y de diversos factores ambientales (Khayyat et.al., 2018).

### **3.1.3. Relación de componentes fenólicos y antioxidantes como elementos nutritivos en la dieta de los consumidores.**

Los ácidos orgánicos han sido identificados como responsables, en gran medida, de la textura y sabor de las frutas, los cuales juegan un papel

fundamental en la aceptación de los consumidores. **(Walker & Famiani, 2018).**

Las propiedades de la semilla de lupino son consideradas no solo por su función nutritiva sino también por los efectos beneficiosos que estos compuestos pueden tener en el cuerpo humano. Las características más beneficiosas incluyen actividades hipolipidémicas, hipoglucémicas, hipotensoras, anticancerígenas y contra la obesidad **(Ruiz-López et al., 2019)**. Así mismo, el melloco blanco tiene propiedades antiinflamatorias que han sido aprovechadas para reducir procesos inflamatorios, y su extracto ha mostrado propiedades regeneradoras con procolágeno. **(Heil, Bravo, Montoya, Robledo, & Osorio, 2017).**

Como se mencionó anteriormente, la harina de melloco blanco posee flavonoides como la rutina, el cual ha sido relacionado a la actividad antiinflamatoria contra la colitis, como lo menciona **Fitzpatrick & Woldemariam, (2017)**, en su estudio con ratones con enfermedades inflamatorias intestinales. La rutina, además, ha mostrado un efecto protector contra la aterosclerosis, el estrés oxidativo, la cardiotoxicidad, la disfunción de las células endoteliales y la insuficiencia cardíaca **(Patel et al., 2018)**. Sin embargo, se ha mencionado que muy pocas plantas tienen la capacidad de almacenar rutina en grandes cantidades **(Habtemariam & Varghese, 2015)**. El melloco blanco además es rico en kaempferol-O-ramnósido-O-rutinósido, un polifenol que ha ejercido efectos antiinflamatorios y antiasmáticos en modelo de ratones **(Chung et al., 2015)**. Ácido ferúlico, el cual ha sido profundamente estudiado en los últimos años, gracias a su efecto preventivo contra el cáncer, enfermedades como Alzheimer, diabetes mellitus, enfermedades de la piel y cardiovasculares **(Shahabadi et al., 2017; Sgarbossa et al., 2015)**.

Así mismo la harina del chocho, tiene dentro de sus componentes fenólicos a los glucósidos del ácido p-cumárico, que son derivados del ácido hidroxicinámico. Este posee actividad antiinflamatoria además de propiedades beneficiosas en la diabetes experimental, la hiperlipidemia y en tratamientos contra enfermedades ocasionadas por la obesidad. **(Alam, Subhan & Hossain,**



**2016**). También se menciona la presencia de derivados de apigenina, que contiene un potencial antioxidante muy grande y puede estimular el metabolismo de la glucosa y aumentar la secreción de insulina del páncreas. **(Liu, Chen & Yang, 2011)**. Además, puede ayudar a prevenir complicaciones diabéticas como cataratas, retinopatía y neuropatía. **(Barky, Ezz & Mohammed, 2020)**. **Ahmed et.al. (2021)** menciona que la apigenina posee un potencial anticancerígeno.

## CAPÍTULO 4

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 4.1. Conclusiones

- Se identificó, mediante el empleo de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), la presencia de los componentes fenólicos en las harinas de chocho (*Lupinus mutabilis sweet*) y melloco blanco (*Ullucus tuberosus*). Específicamente se pudo determinar la presencia del ácido gálico en concentraciones de 0,54 y 60,28 mg/kg respectivamente. Además, en el caso del chocho, al comparar los tiempos de retención (Rt) obtenidos en el cromatograma con estudios similares, hay una gran posibilidad de que existan glucósidos del ácido p-cumárico. Así mismo, al comparar los Rt obtenidos en la harina de melloco blanco, se puede suponer que existe una cantidad de dirhamnosilhexósido de quercetina.
- Se analizó la capacidad antioxidante de las harinas de chocho y melloco blanco mediante el método de 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH). Efectivamente nuestras matrices poseen actividad antioxidante. Esto debido a la presencia de diferentes componentes fenólicos que otorgan esta característica a dichos cultivos. El porcentaje de inhibición fueron de 86,96 y 12,56 para el melloco blanco y el chocho respectivamente. En ambos cultivos se obtuvieron valores diferentes a los bibliográficos, lo cual se lo adjudica a las diferentes condiciones de crecimiento de la planta y tratamiento de los mismos durante la elaboración de las harinas.
- Se estableció una relación de componentes fenólicos y antioxidantes como elementos nutritivos en la dieta de los consumidores. Y es que la presencia de componentes fenólicos en el chocho y melloco blanco otorgan propiedades beneficiosas para la salud del hombre. Es por ello que, la inclusión de estos cultivos en la elaboración de alimentos funcionales puede generar un gran impacto en la salud del consumidor, contribuyendo a alcanzar un nivel de vida adecuado, al cual todos tenemos derecho.

## 4.2. Recomendaciones

- Debido al limitado capital, únicamente se determinó la presencia de ácido gálico en las muestras. Para ampliar este listado, sería conveniente el uso de un equipo HPLC que esté acoplado a un espectrómetro de masas, con el cual se pueda generar mejor visibilidad de la estructura de los compuestos y así lograr determinar más de uno.
- Usar diferentes matrices en la determinación de la actividad antioxidante, con el objetivo de demostrar cual es la que posee mayor porcentaje de inhibición ante los radicales DPPH.
- Para realizar el DPPH se realizó una extracción metanólica de los componentes de las harinas. Se recomienda utilizar diferentes tipos de extracciones, como el Soxhlet, extracción metanólica, entre otros. Un mayor número de variables, aumenta la posibilidad de hallar un método más eficiente.

## MATERIALES DE REFERENCIA

### Referencias Bibliográficas

- Abraham, E. M., Ganopoulos, I., Madesis, P., Mavromatis, A., Mylona, P., Nianiou-Obeidat, I. & Vlachostergios, D. (2019). The Use of Lupin as a Source of Protein in Animal Feeding: Genomic Tools and Breeding Approaches. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(4). <https://doi.org/10.3390/IJMS20040851>
- Ahmed, SA, Parama, D., Daimari, E., Girisa, S., Banik, K., Harsha, C. & Kunnumakkara, AB (2021). Racionalización del potencial terapéutico de la apigenina contra el cáncer. *Ciencias de la vida*, 267, 118814.
- Alam, MA, Subhan, N. & Hossain, H. (2016). Derivados del ácido hidroxicinámico: una clase potencial de compuestos naturales para el manejo del metabolismo de los lípidos y la obesidad. *Nutr Metab (Londres)* 13, 27. <https://doi.org/10.1186/s12986-016-0080-3>
- Arellano Martínez, A. A. (2022). *Análisis nutricional y actividades biológicas de compuestos bioactivos derivados del chocho (Lupinus Mutabilis)* (Bachelor's thesis, Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología. Carrera de Ingeniería en Alimentos).
- Barky, A., Ezz, A. y Mohammed, T. (2020). El papel potencial de la apigenina en la diabetes mellitus. *En t. J. Clin. Caso Rep. Rev.*, 3 (1), 32.
- Beltrán, J. C. (2021). *Valoración de la capacidad antioxidante de una bebida vegetal de chocho (lupinus mutabilis) como aporte nutricional para una población geriátrica*. Obtenido de <http://repositorio.utmachala.edu.ec/>: [http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/17329/1/E-2092\\_AMAYA%20BELTRAN%20JOSELYN%20CAROLAINE.pdf](http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/17329/1/E-2092_AMAYA%20BELTRAN%20JOSELYN%20CAROLAINE.pdf)
- Benítez-Estrada, A., Villanueva-Sánchez, J., González-Rosendo, G., Alcántar-Rodríguez, V. E., Puga-Díaz, R., & Quintero-Gutiérrez, A. G. (2020). Determinación de la capacidad antioxidante total de alimentos y plasma humano por fotoquimioluminiscencia: Correlación con ensayos fluorométricos (ORAC) y espectrofotométricos (FRAP). *TIP. Revista Especializada En Ciencias Químico-*

*Biológicas*, 23, 1–9. <https://doi.org/10.22201/FESZ.23958723E.2020.0.244>

- Bobo, G., Davidov, G., Arroqui, C., Vírveda, P., Marín, M. R., & Navarro, M. (2015). 34 Intra-laboratory validation of microplate methods for total phenolic content and antioxidant activity on polyphenolic extracts, and comparison with conventional spectrophotometric methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(1), 204–209. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6706>
- Clark, P. (2016). *Can the State Foster Food Sovereignty? Insights from the Case of Ecuador*. 16(2), 183–205. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/joac.12094>
- Cordova-Ramos, J. S., Glorio-Paulet, P., Camarena, F., Brandolini, A., & Hidalgo, A. (2020). *Andean lupin (Lupinus mutabilis Sweet): Processing effects on chemical composition, heat damage, and in vitro protein digestibility*. <https://doi.org/10.1002/cche.10303>
- Czubinski, J., Grygier, A. & Siger, A. (2021). *Composición de semillas de Lupinus mutabilis y su comparación con otras especies de chocho. Revista de composición y análisis de alimentos*, 99, 103875. Doi: 10.1016/j.jfca.2021.103875
- Chirinos, R., Campos, D., Costa, N., Arbizu, C., Pedreschi, R., & Larondelle, Y. (2008). Phenolic profiles of andean mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón) tubers: Identification by HPLC-DAD and evaluation of their antioxidant activity. *Food Chemistry*, 106(3), 1285-1298.
- Chung, M., Pandey, R., Choi, J., Sohng, J., Choi, D. & Park, Y., (2015). Inhibitory effects of kaempferol-3-O-rhamnoside on ovalbumin-induced lung inflammation in a mouse model of allergic asthma. *Int. Immunopharmacol.* 25, 302–310.
- De la Rosa, L., Moreno, J., Rodrigo, J., & Alvarez, E. (2019). Phenolic compounds. In *Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables* (pp. 253–271). <https://doi.org/doi:10.1016/b978-0-12-813278-4.00012-9>
- Dueñas, M., Escribano, T., Moreno, F., Pacheco, M., & Villamiel, M. (2019). Determination by HPLC-DAD-ESI/MSn of phenolic compounds in Andean tubers grown in Ecuador. *Journal of Food Composition and Analysis*, 84. <https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2019.103258>

- FAO. (2022). Metas de desarrollo sostenible. Retrieved November 10, 2022, from <https://www.fao.org/sustainable-development-goals/goals/goal-2/en/>
- Fitzpatrick, L. & Woldemariam, T. (2017). Fármacos de molécula pequeña para el tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal. *Química médica integral III*, 495–510. doi:10.1016/b978-0-12-409547-2.12404-7
- García Aguirre, G. A. (2018). *Determinación del efecto del desamargado y fermentado*. Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/>: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/15742/1/T-UCE-0008-CQU-013.pdf>
- Giunta, I. (2018). Soberanía alimentaria entre derechos del buen vivir y políticas agrarias en Ecuador. *Theomai Journal*. Retrieved from <http://www.revista-theomai.unq.edu.ar/numero38>
- Habtemariam, S. & Varghese, G.K., (2015). Extractability of Rutin in herbal tea preparations of *Moringa stenopatala* leaves. *Beverages I*, 169–182.
- Heil, N., Bravo, K., Montoya, A., Robledo, S., & Osorio, E. (2017). Wound healing activity of *Ullucus tuberosus*, an Andean tuber crop. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(6), 538–543. <https://doi.org/10.1016/J.APJTb.2017.05.007>
- Karamać, M., Orak, H. H., Amarowicz, R., Orak, A., & Piekoszewski, W. (2018). Phenolic contents and antioxidant capacities of wild and cultivated white lupin (*Lupinus albus* L.) seeds. *Food Chemistry*, 258, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.03.041>
- Kardani, K., Gurav, N., Solanki, B., Patel, P., & Patel, B. (2013). RP-HPLC method development and validation of gallic acid in Polyherbal tablet formulation. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3(5), 37–42. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2013.3508>
- Khayyat, M., Barati, Z., Aminifard, MH., & Samadzadeh, A. (2018). Cambios en los índices de madurez de la fruta y el patrón de crecimiento a lo largo de la temporada de cosecha en agracejo sin semillas en diferentes condiciones de altitud. *J Berry Res.* 8:25–40. <https://doi.org/10.3233/JBR-170166>

- Knecht, K. T., Sanchez, P., & Kinder, D. H. (2020). Lupine Seeds (*Lupinus* spp.): History of Use, Use as An Antihyperglycemic Medicinal, and Use as a Food Plant. *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*, 393–402. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818553-7.00027-9>
- Liu, QX, Chen, G., & Yang, X. (2011). *Apigenin inhibits cell migration through MAPK pathways in human bladder smooth muscle cells*. *Biocell*, 35: 71-79
- MAGAP. (2019). *INIAP investigó propiedades nutritivas del chocho, alternativa para una mejor alimentación – Ministerio de Agricultura y Ganadería*. <https://www.agricultura.gob.ec/iniap-investigo-propiedades-nutritivas-del-chocho-alternativa-para-una-mejor-alimentacion/>
- Mejía Lotero, F. M., Salcedo Gil, J. E., Vargas Lodoño, S., Serna Jiménez, J., & Torres Valenzuela, L. S. (2018). *Capacidad antioxidante y antimicrobiana de tubérculos andinos (*Tropaeolum tuberosum* Y *Ullucus tuberosus*)*. *Rev. U.D.C.A Act. & Div.*
- Ministerio de Cultura y Patrimonio. (2015). *En los Andes comen mellocos para tener energía y aliviar las penas – Ministerio de Cultura y Patrimonio*. <https://www.culturaypatrimonio.gob.ec/en-los-andes-comen-mellocos-para-tener-energia-y-aliviar-las-penas/>
- Pacheco, M. T., Escribano-Bailón, M. T., Moreno, F. J., Villamiel, M., & Dueñas, M. (2019). *Determination by HPLC-DAD-ESI/MSn of phenolic compounds in Andean tubers grown in Ecuador*. *Journal of Food Composition and Analysis*, 103258. Doi: 10.1016/j.jfca.2019.103258
- Patel, R.V., Mistry, B.M., Shinde, S.K., Syed, R., Singh, V. & Shin, H.S., (2018). Therapeutic potential of quercetin as a cardiovascular agent. *Eur. J. Med. Chem* 155, 889–904.
- Pérez, D., Castañeda, M. & Granda, M. (2019). Composición Química y Actividad Antioxidante de las Principales Frutas, Tubérculos y Legumbres Tradicionalmente Consumidas en las Regiones Andinas del Ecuador como Fuente de Compuestos Promotores de Salud. *Alimentos vegetales Hum Nutr* **74**, 350–357. <https://doi.org/10.1007/s11130-019-00744-8>
- Ruiz-López, M. A., Barrientos-Ramírez, L., García-López, P. M., Valdés-Miramontes,

- E. H., Zamora-Natera, J. F., Rodríguez-Macias, R., & Vargas-Radillo, J. J. (2019). Nutritional and Bioactive Compounds in Mexican Lupin Beans Species: A Mini-Review. *Nutrients* 2019, Vol. 11, Page 1785, 11(8). <https://doi.org/10.3390/NU11081785>
- Salazar, D. (2021). *Caracterización y aptitud tecnológica de residuos agroindustriales y cultivos andinos para el diseño y desarrollo de alimentos*. Universidad Complutense de Madrid.
- Santana, D. (2017). *Una mejor alimentación de los ecuatorianos*. <https://es.scribd.com/document/364813172/E1-Chocho-Es-Una-AlternativaPara-Una-Mejor-Alimentacion-de-Los-Ecuatorianos>
- Sgarbossa, D., Giacomazza, M. & Carlo, H. (2015). *Ferulic acid: a hope for Alzheimer's disease therapy from plants*. *Nutrients* 7, 549–554.
- Shahabadi, N., Mahdavi, M., Taherpour, A., & Ghasemhezaveh, F. (2017). Synthesis, characterization and in vitro DNA binding studies of a new copper(II) complex containing antioxidant ferulic acid. *J. Coord. Chem.* 70, 1–17.
- Suarez, D., & Morales, Y. (2018). Basic principles of high performance liquid chromatography for the separation and analysis of mixtures. *América Revista Semilleros: Formación Investigativa*, 4(1), 1–14. Retrieved from <https://repository.uamerica.edu.co/bitstream/20.500.11839/7731/1/6131978-2018-1-IQ.pdf>
- Suca, G. (2015). Potencial del tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) como futura fuente proteínica y avances de su desarrollo agroindustrial. *Revista Peruana de Química e Ingeniería Química*, 18(2), 55-71.
- Tapia, M., & Fries, A. M. (2007). Guía de campo de los cultivos Andinos. *FAO y ANPE*. Retrieved from <https://www.fao.org/3/ai185s/ai185s.pdf>
- United States Department of Agriculture. (2022a). *Taxon: Lupinus mutabilis*. Laboratorio Nacional de Recursos de Germoplasma, Beltsville, Maryland. <https://acir.aphis.usda.gov/s/cird-taxon/a0ut0000000mZXvAAM/lupinus-mutabilis>



- United States Department of Agriculture. (2022b). *Taxon: Ullucus tuberosus. Germplasm Resources Information Network (GRIN Taxonomy)*. National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland  
<https://acir.aphis.usda.gov/s/cird-taxon/a0ut0000000mJzjAAE/ullucus-tuberosus>
- USDA, (2020). *Food and Nutrition Security*. <https://www.usda.gov/nutrition-security>
- Valcárcel, B., Rondán, G., & Finardi, F. (2013). The physical, chemical and functional characterization of starches from Andean tubers: oca (*Oxalis tuberosa* Molina), olluco (*Ullucus tuberosus* Caldas) and mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón). *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 49(3), 453–464.  
<https://doi.org/10.1590/S1984-82502013000300007>
- Villarino, J., Jayasena, R., Coorey, S., Chakrabarti, B., & Johnson, S. (2015). *Nutritional, Health, and Technological Functionality of Lupin Flour Addition to Bread and Other Baked Products: Benefits and Challenges*.  
<https://doi.org/10.1080/10408398.2013.814044>
- Walker R. & Famiani, F. (2018). *Ácidos orgánicos en frutas*. Reseñas hortícolas. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, Nueva Jersey, EE. UU., págs. 371–430
- Zavaleta, J., Muñoz, A. M., Blanco, T., Alvarado-Ortiz, C., & Loja, B. (2005). Capacidad antioxidante y principales ácidos fenólicos y flavonoides de algunos alimentos. *Horizonte médico*, 5(2).

## ANEXOS

### ANEXO A. Obtención de harinas de chocho y melloco blanco

#### Figura 5.

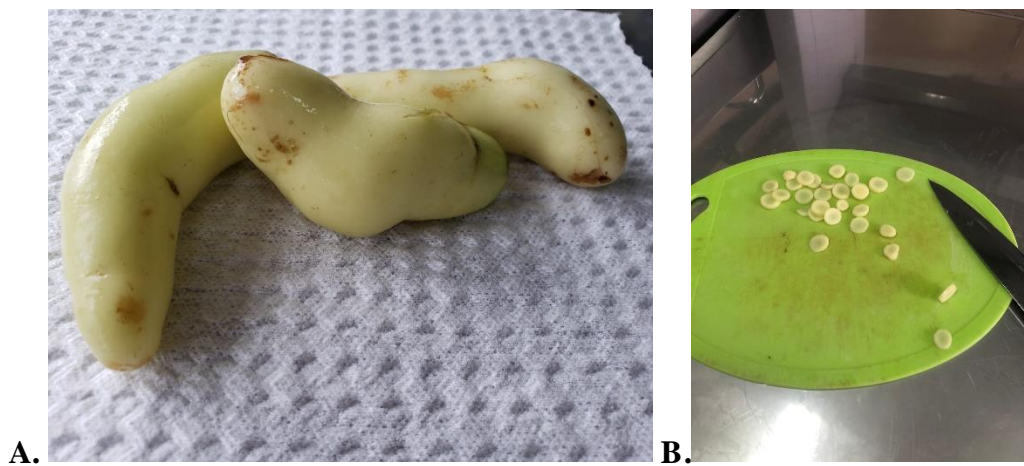
*Preparación del chocho. A. Chocho pelado; B. Separación de cotiledones*



Elaborado por: (Suárez, 2023)

#### Figura 6.

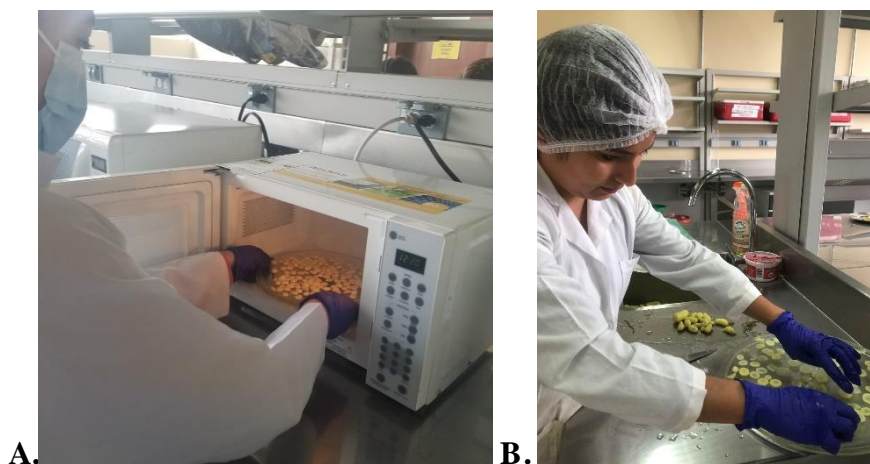
*Preparación del melloco blanco. A. Melloco blanco; B. Corte del melloco blanco en láminas de 2 a 3 mm de diámetro.*



Elaborado por: (Suárez, 2023)

**Figura 7.**

*Pretratamiento en microondas. A. Chocho; B. Melloco blanco*



**Elaborado por: (Suárez, 2023)**

**Figura 8.**

*Proceso de deshidratación de las muestras a 60 °C durante 8 h*



**Elaborado por: (Suárez, 2023)**

**Figura 9.**

*Producto final; A. Harina de chocho; B. Harina de melloco blanco*



**Elaborado por: (Suárez, 2023)**

## **ANEXO B. Extracción metanólica**

### **Figura 10.**

*Pesado de muestra para el proceso de macerado con metanol al 98%*



**Elaborado por: (Suárez, 2023)**

### **Figura 11.**

*Filtrado del macerado en etanol luego de 24 horas*



**Elaborado por: (Suárez, 2023)**

**Figura 12.**

*Rota evaporado del macerado filtrado*

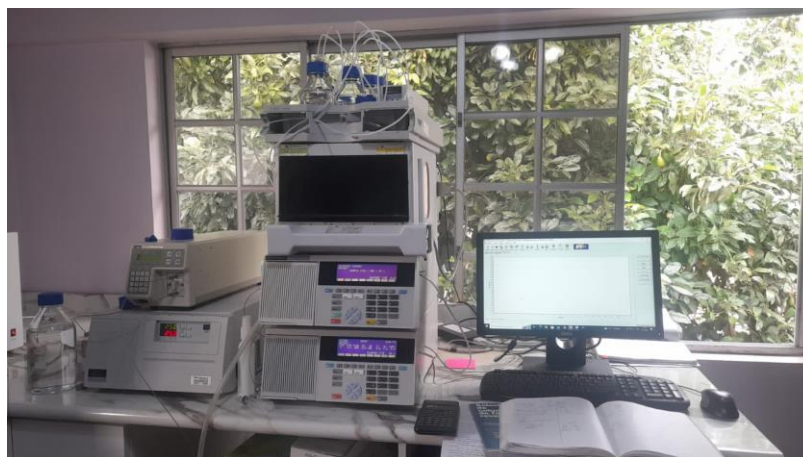


**Elaborado por: (Suárez, 2023)**

**ANEXO C. Identificación de componentes fenólicos en las harinas de chocho y melloco blanco**

**Figura 13.**

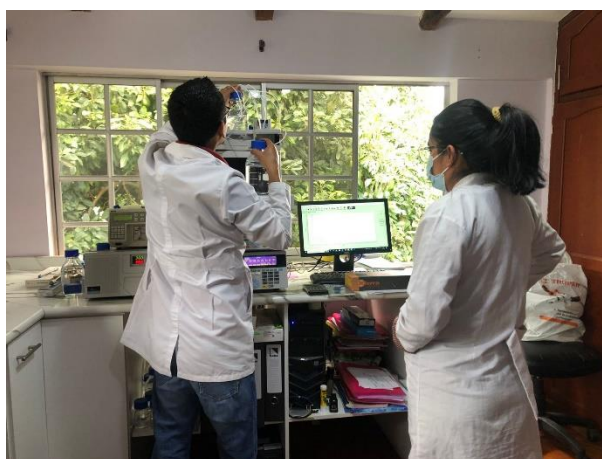
*Equipo de cromatografía líquida de alta resolución*



**Elaborado por: (Suárez, 2023)**

**Figura 14.**

*Inyección de muestras en el cromatógrafo*



**Elaborado por: (Suárez, 2023)**

**Tabla 16.**

*Datos para el análisis del estándar en HPLC*

<b>Muestra</b>	<b>Cantidad (mg)</b>	<b>AFORO (ml)</b>	<b>PUREZA</b>	<b>DILUCION</b>	<b>Concentración (mg/ml)</b>	<b>Área</b>
Acido gálico	22,8	25	0,98	1/100	0,0089376	464728,656

**Elaborado por:** (Suárez, 2023)

**Tabla 17.**

*Picos obtenidos de la corrida del estándar (Ac. gálico)*

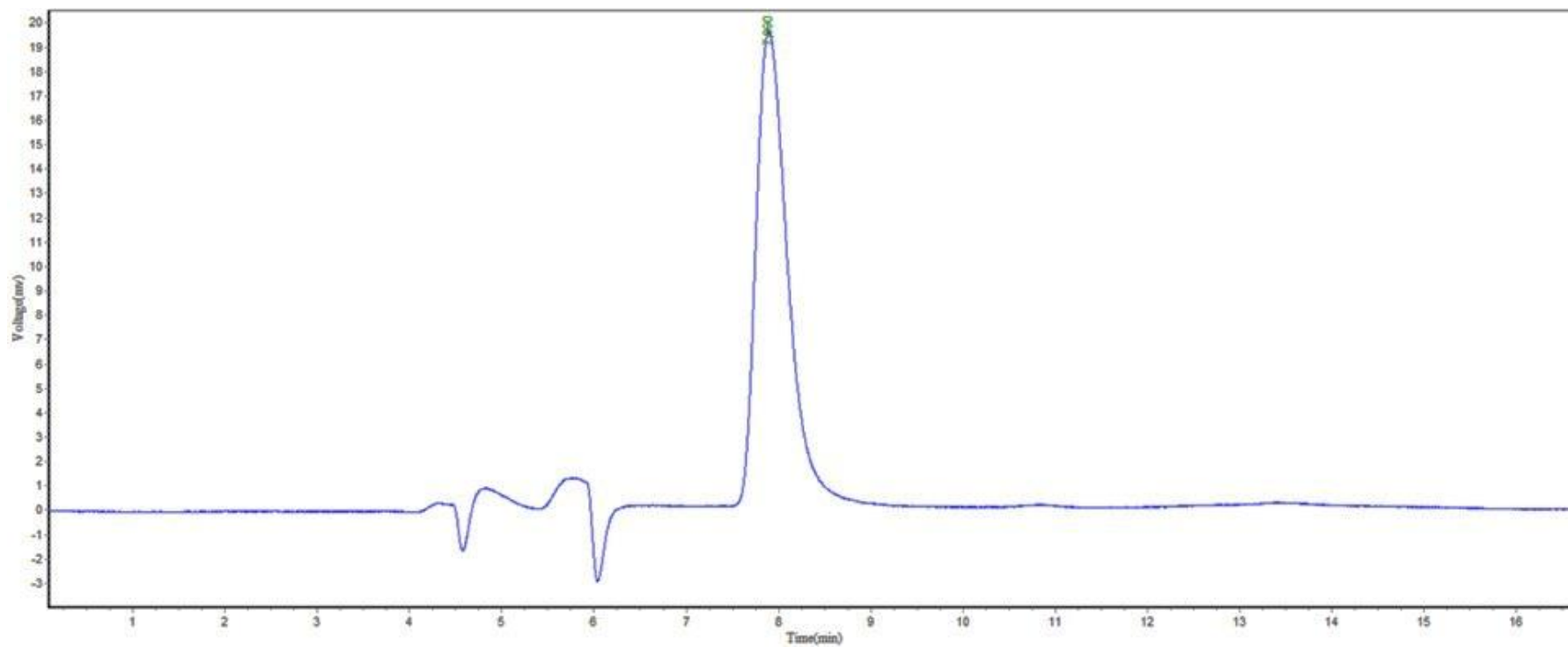
<b>Pico</b>	<b>Rt (min)</b>	<b>Identificación tentativa</b>
1	7,890	<i>Ácido gálico</i>

**Elaborado por:** (Suárez, 2023)



**Figura 15.**

*Cromatograma del análisis en HPLC de una muestra de ácido gálico al 98% a una concentración de 0,0089376 mg/ml*



Elaborado por: (Suárez, 2023)

**Tabla 18.**

*Datos para el análisis de la harina de chocho (Lupinus mutabilis sweet) y melloco blanco (Ullucus tuberosus) en HPLC*

<b>Muestra</b>	<b>Cantidad (mg)</b>	<b>Aforo (ml)</b>	<b>% Pureza</b>	<b>Dilución</b>	<b>Muestra (ml)</b>	<b>Área</b>
Chocho	3371,9					1904,498
Melloco Blanco	3325,8	50	100	1/100	1	208479,578

**Elaborado por: (Suárez, 2023)**

**ANEXO D. Determinación de la actividad antioxidante del chocho y melloco blanco mediante DPPH**

**Figura 16.**

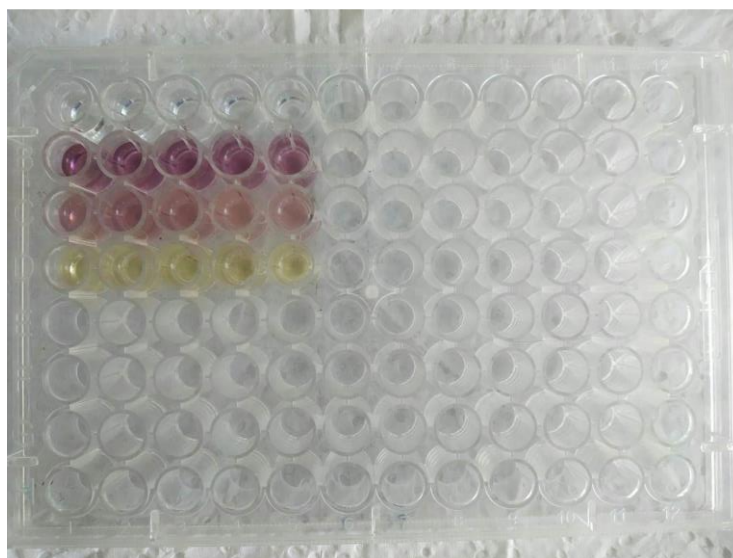
*Preparación de placa multipocillo*



**Elaborado por: (Suárez, 2023)**

**Figura 17.**

*Placa multipocillo luego de 40 minutos en la oscuridad*



**Elaborado por: (Suárez, 2023)**

**Figura 18.**

*Lectura de absorbancias a 515 nm*



**Elaborado por: (Suárez, 2023)**

**Tabla 19.**

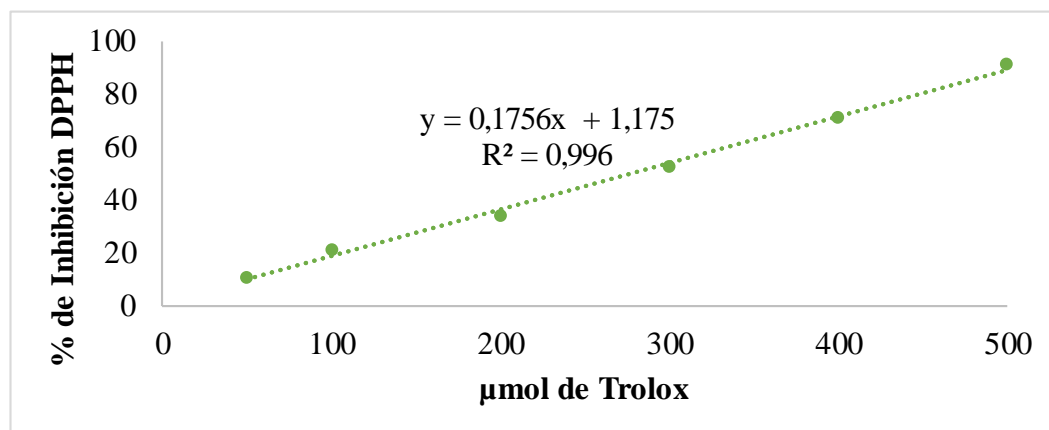
*Porcentaje de inhibición del Trolox a diferentes concentraciones*

<b>Concentración (<math>\mu\text{mol/L}</math>)</b>	<b>% Inhibición</b>
50	10,684
100	20,868
200	33,556
300	52,421
400	70,785
500	90,985

**Elaborado por: (Suárez, 2023)**

### Gráfica D1.

Curva de calibración del Trolox



Elaborado por: (Suárez, 2023)

Tabla 20.

Absorbancias obtenidas en el ensayo de radicales DPPH en chocho (*Lupinus mutabilis sweet*)

	Réplicas					Promedio
	1	2	3	4	5	
<b>Blanco</b>	0,045	0,046	0,064	0,064	0,069	0,058 ± 0,010
<b>Control</b>	0,445	0,517	0,550	0,564	0,545	0,524 ± 0,042
<b>Muestra</b>	0,433	0,486	0,459	0,453	0,497	0,466 ± 0,023

Elaborado por: (Suárez, 2023)

Nota: Los resultados son los promedios ± la desviación estándar.

**Tabla 21.**

*Absorbancias obtenidas en el ensayo de radicales DPPH en el melloco blanco (Ullucus tuberosus)*

	Réplicas					Promedio
	1	2	3	4	5	
<b>Blanco</b>	0,059	0,055	0,058	0,055	0,063	0,058 ± 0,003
<b>Control</b>	0,476	0,481	0,512	0,509	0,421	0,480 ± 0,037
<b>Muestra</b>	0,123	0,102	0,113	0,125	0,102	0,113 ± 0,011

**Elaborado por: (Suárez, 2023)**

*Nota: Los resultados son los promedios ± la desviación estándar.*

**ANEXO E. Análisis estadístico en el paquete estadístico INFOSTAT**

**Tabla 22.**

*Cuadro de análisis de la varianza para la absorbancia (SC Tipo III)*

<b>F.V</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Valor P</b>
Modelo	0,31	1	0,31	788,58	<0,0001
Muestra	0,31	1	0,31	788,58	<0,0001
Error	$3,2 \times 10^{-3}$	8	$3,2 \times 10^{-4}$		
Total	0,31	10			

**Elaborado por: (Suárez, 2023)**

**Tabla 23.**

*Prueba de Tukey para las absorbancias obtenidas en el chocho y melloco blanco*

<b>Muestra</b>	<b>Medias</b>	<b>n</b>	<b>E.E</b>	
Chocho	0,47	5	0,01	<b>A</b>
Melloco blanco	0,11	5	0,01	<b>B</b>

**Elaborado por: (Suárez, 2023)**

*Nota: Error: 0,0004; gl: 8; Alfa=0,05; DMS= 0,02895*

**Tabla 24.**

*Cuadro de análisis de la varianza para el % Inhibición (SC Tipo III)*

<b>F.V</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Valor P</b>
Modelo	13839,22	1	13839,22	738,91	<0,0001
Muestra	13839,22	1	13839,22	738,91	<0,0001
Error	149,83	8	18,73		
Total	13989,05	10			

**Elaborado por: (Suárez, 2023)**

**Tabla 25.**

*Prueba de Tukey para el % Inhibición obtenidas en el chocho y melloco blanco*

<b>Muestra</b>	<b>Medias</b>	<b>n</b>	<b>E.E</b>	
Chocho	86,96	5	1,94	<b>B</b>
Melloco blanco	12,56	5	1,94	<b>A</b>

**Elaborado por: (Suárez, 2023)**

*Nota: Error: 18,7292; gl: 8; Alfa=0,05; DMS= 6,31175*