



Determinación del contenido fenólico y capacidad antioxidante, en plantas de frejol (*Phaseolus vulgaris* L.) sanas y afectadas por la ceniza proveniente del Volcán Cotopaxi

Sivizaca Flores, Nina Gabriela

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Biotecnología

Trabajo de integración curricular, previo a la obtención de título de Ingeniera Biotecnóloga

Mihai Raluca Alexandra, Ph.D.

01 de marzo del 2024



Sivizaca_Nina_Tesis_Frejol.pdf



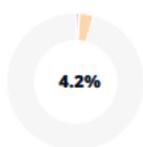
Scan details

Scan time:
March 1th, 2024 at 19:14 UTC

Total Pages:
50

Total Words:
12275

Plagiarism Detection



Types of plagiarism		Words
● Identical	0.6%	78
● Minor Changes	0.3%	37
● Paraphrased	3.2%	393
● Omitted Words	2.1%	255

AI Content Detection



Text coverage

- AI text
- Human text



Departamento de Ciencia de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Biotecnología

Certificado

Certifico que el trabajo de integración curricular: "**Determinación del contenido fenólico y capacidad antioxidante, en plantas de frejol (*Phaseolus vulgaris* L.) sanas y afectadas por la ceniza proveniente del Volcán Cotopaxi**" fue realizado por la señorita Sivizaca Flores Nina Gabriela, el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además fue revisado y analizado en su totalidad por la herramienta de prevención y/o verificación de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

Sangolquí, 04 de marzo 2024



Mihai Raluca Alexandra Ph. D

C. C. 1757487507



Departamento de Ciencia de la Vida y de la Agricultura
Carrera de Biotecnología

Responsabilidad de Autoría

Yo **Sivizaca Flores, Nina Gabriela**, con cédula de ciudadanía n° 110599744-7, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de integración curricular: **"Determinación del contenido fenólico y capacidad antioxidante, en plantas de frejol (*Phaseolus vulgaris* L.) sanas y afectadas por la ceniza proveniente del Volcán Cotopaxi"** es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Sangolquí, 04 de marzo 2024

.....
Sivizaca Flores Nina Gabriela

C. C. 1105997447



Departamento de Ciencia de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Biotecnología

Autorización de Publicación

Yo **Sivizaca Flores Nina Gabriela**, con cédula de ciudadanía n° 110599744-7, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de integración curricular: **"Determinación del contenido fenólico y capacidad antioxidante, en plantas de frejol (*Phaseolus vulgaris* L.) sanas y afectadas por la ceniza proveniente del Volcán Cotopaxi"** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi/nuestra responsabilidad.

Sangolquí, 04 de marzo 2024

.....
Sivizaca Flores Nina Gabriela

C. C. 1105997447

Dedicatoria

Dedico la realización de esta tesis a mi familia, a mis padres Yuri Sivizaca y Nina Flores, a mis hermanos Santiago Sivizaca y Miguel Sivizaca que gracias al apoyo incondicional y con mucho esfuerzo se ve reflejado en la culminación de mi carrera.

Para mi abuela Delia María Aguirre que cada apoyo brindado fue un impulso para conseguir mis objetivos en todo mi proceso académico, me enseñaste a siempre esforzarme, que siempre existirán dificultades pero que con esfuerzo cualquier momento de dificultad se podrá solucionar, eres una mujer brillante y fuerte.

Para mi abuela Emperatriz Flores fuiste mi apoyo incondicional, aquella persona que me impulso a nunca rendirme porque siempre existirá una salida para cualquier dificultad, y como siempre ser feliz por encima de cualquier dificultad, siempre serás un bello recuerdo que tendré para mí.

Nina Gabriela Sivizaca Flores

Agradecimientos

Agradecemos a Dios, por la vida, la salud y por el desarrollo de esta investigación, porque sin Él nada hubiese sido posible.

Agradezco a mis padres (Yuri y Nina) porque sin ellos no podría verse culminado esta etapa como es la obtención de mi título universitario. Por ser mi apoyo incondicional y por seguir alentándome en los días en el que ya no podía continuar, incentivándome a seguir adelante y a cumplir mis sueños.

A mis amigos de la universidad, gracias por su acompañamiento, sus locuras, sus risas, sus noches de estudio, los viajes y sobre todo el apoyo mutuo que nos hemos dado en los momentos difíciles.

A mi amigo Bryan y mi amiga Karol, gracias por su apoyo incondicional, y por animarme a seguir luchando por mis metas y nunca rendirme frente a las dificultades.

A la doctora Raluca Mihai, mi docente y mi tutora de tesis, muchas gracias que sin usted esto no sería posible. Gracias por depositar la confianza en mí y brindarme la oportunidad de realizar este proyecto.

A todos los que formaron parte de mi vida universitaria, he disfrutado del proceso de la culminación de la carrera. Sin duda este camino me ha dejado muchas enseñanzas.

Nina Gabriela Sivizaca Flores

Índice de contenido

Capítulo I: Introducción	17
Antecedentes	17
Justificación del problema	18
Objetivos	21
Objetivo General	21
Objetivos Específicos	21
Hipótesis	21
Capítulo II: Marco teórico	22
Origen e Historia	22
Taxonomía del frejol (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	24
Morfología del frejol (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	24
Raíz	25
Hoja	25
Flores	25
Tallo	26
Fruto y Semilla	26
Requerimientos edafoclimáticos	26
Suelo	26
Temperatura	27

Composición nutricional del grano de frejol	29
Zonas de producción en Ecuador	29
Zonas de producción en el mundo.....	31
Metabolitos de las plantas	31
Metabolitos primarios.....	31
Metabolitos secundarios	31
Metabolitos en el género <i>Phaseolus</i>	34
Métodos para determinar el contenido fitoquímico	35
Ensayo de Folin-Ciocalteu	35
Capacidad antioxidante	36
Métodos para determinar la capacidad de antioxidante.....	37
Ensayo 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH)	37
Ensayo 2,2'-azino-bis-(ácido 3-etilbenzoatiazolin-6- sulfónico) ABTS+	39
Ensayo del Poder Antioxidante Reductor de Iones Férricos (FRAP)	40
Ensayo de la Capacidad Antioxidante Reductora del Ion Cúprico (CUPRAC)	41
Ensayo de la capacidad de Absorción de Radicales de Oxígeno (ORAC).....	41
Actividad volcánica en Ecuador	42
Volcán Cotopaxi.....	42
Erupción Volcánica	42
Origen de la ceniza volcánica.....	43
Composición de la ceniza volcánica.....	43

	10
Implicaciones de la ceniza volcánica en plantas	44
Capítulo III: Metodología.....	46
Origen de las muestras	46
Obtención de especímenes vegetales	46
Tratamientos de los granos de frejol (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	46
Obtención de los extractos de frejol (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	47
Determinación del carácter antioxidante por el método DPPH.....	47
Determinación del carácter antioxidante por el método ABTS	48
Determinación del carácter antioxidante por el método FRAP	48
Determinación del contenido de fenoles totales (TPC)	49
Análisis estadístico	49
Factores de estudio	49
Unidad experimental.....	49
Tratamientos	49
Diseño de análisis de varianza	51
Capítulo IV: Resultados	52
Obtención de los frutos	52
Capacidad antioxidante	52
Determinación del carácter antioxidante por el método DPPH	53
Determinación del carácter antioxidante por el método FRAP	56
Determinación el carácter antioxidante por el método ABTS.....	56

Análisis estadístico	57
Compuestos fenólicos	59
Determinación del contenido de fenoles totales	60
Análisis estadístico	61
Capítulo V: Discusión	64
Conclusiones	68
Recomendaciones	69
Capítulo VI: Bibliografía	70
Capítulo VII: Apéndices	91

Índice de tablas

Tabla 1 <i>Clasificación taxonómica del frejol</i>	24
Tabla 2 <i>Etapas de desarrollo de la planta de frejol</i>	28
Tabla 3 <i>Composición química del frejol en 100 mg</i>	29
Tabla 4 <i>Superficie, producción y rendimiento de frejol en grano seco en Ecuador</i>	30
Tabla 5 <i>Mineralogía de la ceniza volcánica del volcán Cotopaxi</i>	44
Tabla 6 <i>Diseño experimental unifactorial para el análisis del contenido fenólico en granos de frejol (Phaseolus vulgaris L.) sanas y afectadas</i>	50
Tabla 7 <i>Diseño experimental factorial para la determinación de la capacidad antioxidante en plantas de Phaseolus vulgaris L. sanas y afectadas</i>	50
Tabla 8 <i>Diseño de ANOVA para el diseño factorial propuesto de 2x3 para granos de plantas de Phaseolus vulgaris L. sanas y afectadas</i>	51
Tabla 9 <i>Tabla de contingencia de respuestas experimentales</i>	53
Tabla 10 <i>Tabla de contingencia con la estadística descriptiva para el ensayo DPPH</i>	53
Tabla 11 <i>Tabla de contingencia con la estadística descriptiva para el ensayo ABTS</i>	54
Tabla 12 <i>Tabla de contingencia con la estadística descriptiva para el ensayo FRAP</i>	56
Tabla 13 <i>Prueba de Duncan del carácter antioxidante del diseño factorial 3 x 2</i>	59
Tabla 14 <i>Tabla de contingencia con la estadística descriptiva para el ensayo fenoles totales</i> ..	60
Tabla 15 <i>Prueba de Duncan del contenido fenólico</i>	62

Índice de figuras

Figura 1 Representación química del cambio de color en la reacción Folin-Ciocalteu.....	36
Figura 2 Reacción entre el DPPH+ y un antioxidante.....	38
Figura 3 Estructura del ABTS antes y después de la reacción con el antioxidante.....	40
Figura 4 Reducción del complejo Fe (III)-TPTZ.....	40
Figura 5 Mecanismos de reacción en el método CUPRAC.....	41
Figura 6 Granos de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. de las muestras en estudio.....	52
Figura 7 Porcentaje de inhibición de las plantas de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. sanas y afectadas en estudio por el método DPPH.....	54
Figura 8 Porcentaje de inhibición de las plantas <i>Phaseolus vulgaris</i> L. sanas y afectadas en estudio por el método ABTS	55
Figura 9 Porcentaje de inhibición de plantas de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. sanas y afectadas en estudio por el método FRAP	57
Figura 10 Gráfica de interacción métodos vs ceniza	58
Figura 11 Comparación del contenido fenólico en <i>Phaseolus vulgaris</i> L. sanas y afectadas por la exposición de ceniza volcánica en estudio.....	61
Figura 12 Gráfica de interacción ceniza vs método	62

Listado de abreviaturas

DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhydracilo

ABTS: ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)

FRAP: Poder antioxidante reductor de iones férrico

GAE: Equivalente de ácido gálico

fw: muestra fresca

MSNM: Metros sobre el nivel del mar

CUPRAC: Capacidad antioxidante reductora del ion cúprico

CICTE: Centro de investigación científica y tecnológica del ejército

TPC: Contenido de fenoles totales

TRX: Trolox

K₂S₂O₈: Persulfato de potasio

DCA: Diseño factorial al azar

L: Litro

mL: mililitro

Resumen

En el Ecuador las plantas de la especie *Phaseolus vulgaris* L. son de gran importancia económica, ecológica y nutricional, donde se han hecho diferentes investigaciones sobre sus propiedades como su capacidad antioxidante y concentración de compuestos fenólicos, pero sin tomar en cuenta el efecto que pueda ocasionar la ceniza en este tipo de cultivos. El presente trabajo estudió el contenido fenólico y capacidad antioxidante de frutos maduros de plantas de frejol (*Phaseolus vulgaris* L.) sanas y afectadas por la ceniza proveniente del Volcán Cotopaxi. Los métodos para la determinación de la actividad antioxidante fueron la prueba de DPPH, prueba de ABTS y prueba FRAP, para la determinación de los compuestos fitoquímicos fueron la evaluación de fenoles mediante la prueba de Folin-Ciocalteu. Los resultados arrojaron que las muestras con más alto contenido de fenoles, así como la actividad antioxidante fueron las plantas afectadas por la exposición de ceniza volcánica presentando un porcentaje de inhibición del 17.68 % para la prueba de DPPH, 39.64 % para la prueba de ABTS, la capacidad reductora $3.74 \pm 0.34 \mu\text{mol Fe}^{+2}/\text{g fw}$ para la prueba FRAP.

En el contenido de fenoles totales se obtuvo 0.97 mg GAE/g fw. Esto se debe a que la planta aumenta la síntesis de metabolitos secundarios como estrategia para su defensa contra el estrés abiótico. Los metabolitos secundarios también pueden variar su contenido por el estado de desarrollo que se encuentra la planta y su fruto.

Palabras clave: *Phaseolus vulgaris* L., antioxidante, fenoles, ceniza

Abstract

In Ecuador, plants of the species *Phaseolus vulgaris* L. are of great economic, ecological and nutritional importance, where different research has been done on their properties such as their antioxidant capacity and concentration of phenolic compounds, but without taking into account the effect that they may have. cause ash in this type of crops. The present work studied the phenolic content and antioxidant capacity of ripe fruits of bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.) that were healthy and affected by ash from the Cotopaxi Volcano. The methods for determining antioxidant activity were the DPPH test, ABTS test and FRAP test, for the determination of phytochemical compounds were the evaluation of phenols using the Folin-Ciocalteu test. The results showed that the samples with the highest content of phenols, as well as the antioxidant activity, were the plants affected by the exposure of volcanic ash, presenting an inhibition percentage of 17.68 % for the DPPH test, 39.64 % for the ABTS test, the reducing capacity $3.74 \pm 0.34 \mu\text{mol Fe}^{+2}/\text{g fw}$ for the FRAP test.

In the total phenolic content, 0.97 mg GAE/g fw was obtained. This is because the plant increases the synthesis of secondary metabolites as a strategy for its defense against abiotic stress. Secondary metabolites can also vary their content depending on the stage of development of the plant and its fruit.

Keywords: *Phaseolus vulgaris* L., antioxidant, phenols, ash

Capítulo I: Introducción

Antecedentes

El volcán Cotopaxi, ubicado en la provincia de Cotopaxi a 33 kilómetros de Latacunga, tiene una altitud de 5 897 metros sobre el nivel del mar, es considerado uno de los volcanes más grandes del mundo. A lo largo del tiempo, ha experimentado varias erupciones que han ocasionado daños tanto para la naturaleza como para los poblados aledaños (Acevedo, 2020). Como lo que ocurrió a inicios del año 2015, según el Instituto de geofísico EPN (2023), se registró una erupción de baja magnitud que implicó la emisión de gases y la caída de ceniza, donde la investigación de Bernard et al. (2016) clasificó a la erupción del 2015 del volcán Cotopaxi con una magnitud de 2.1. Esta erupción impactó significativamente las actividades agrícolas y turísticas de la provincia de Cotopaxi. Por otro lado, en octubre de 2022, se produjo otra erupción con una menor magnitud en la caída de ceniza, extendiéndose hasta julio de 2023. Sin embargo, en esta última erupción, aún no se conocen los posibles daños ocasionados por la ceniza volcánica en las actividades agrícolas.

Sánchez et al. (2018) menciona que, durante una erupción volcánica, las preocupaciones principales de las personas afectadas, autoridades civiles, productores y la población en general se centran en los posibles impactos de la ceniza para la salud, los daños en cultivos, alteraciones en los suelos y abastecimientos de agua. Estudios previos han indicado que la ceniza volcánica está compuesta principalmente por óxidos de silicio, aluminio, hierro y en menor proporción, de óxidos metales alcalinos y alcalinotérreos como CaO , MgO , Na_2O , K_2O . Cuando la ceniza entra en contacto con fuentes de agua, provoca aumento de la concentración de metales como Fe, Mn y Al, además de que al presentar carácter ácido puede ocasionar corrosión de componentes metálicos, lo cual reitera lo menciona por Mihai et al., (2023) que al contener un pH ácido, ocasionando una disminución de la disponibilidad de macronutriente en las plantas, y las concentraciones elevadas de aluminio en la ceniza pueden convertirse en un agente tóxico para

los cultivos, afectando la división celular y el crecimiento de las raíces, lo que a su vez afectaría la producción y calidad agrícola.

Cadena (2019) menciona que cuando se presentan cantidades reducidas de ceniza volcánica pueden tener efectos beneficiosos al actuar como fertilizantes. Sin embargo, cantidades mayores de ceniza podrían resultar perjudiciales para los cultivos, como el impedir el paso de luz solar al acumularse en las hojas y acidificar tanto las hojas como los frutos. Además, podrían perturbar los ciclos de nitrógeno, como el intercambio de agua y oxígeno en el suelo, lo que alteraría la fertilidad a largo plazo y complicaría la supervivencia de los cultivos.

Justificación del problema

Para lo cual es de gran importancia investigar el contenido fenólico y capacidad antioxidantes de plantas de frejol (*Phaseolus vulgaris* L.) en presencia o ausencia de ceniza volcánica, ya que los resultados obtenidos serán de gran importancia, dado que no existen investigaciones previas al respecto. Según Ulcuango (2018) en Ecuador, las leguminosas son cultivos de gran importancia, principalmente en la región Sierra, donde se cultivan en asociación con otras especies, en monocultivos, o en rotación con otros cultivos. El área total sembrada de cultivos transitorios en el país es de 1 302 398 ha/año, incluye más de 30 especies, donde aproximadamente el 14.8 % corresponde a leguminosas de grano comestible. Según Bedoya & Maldonado (2022), las leguminosas tienen un importante contenido de fitoquímicos con actividad biológica, como lectinas, inhibidores de enzimas, y flavonoides (glucósidos de flavonol, antocianinas y taninos condensados) con capacidad antioxidante. El género *Phaseolus*, en particular, ha demostrado ser beneficioso para la prevención de enfermedades crónicas (cáncer, diabetes y cardiovasculares). Entre las leguminosas más importantes se encuentra el frejol (*Phaseolus vulgaris* L.), reconocido como uno de los granos de consumo humano más importante a nivel mundial debido a sus propiedades nutritivas y su amplia distribución en los cinco continentes. Este cultivo posee una adaptación a diversos suelos y climas, prefiriendo suelos

suelos y climas con temperaturas entre 16 °C y 25 °C, con un periodo de vegetativo que varía entre los 90 y 120 días, además que el Ecuador es de gran utilidad por su rol nutricional que constituye una de las principales fuentes de proteína para las poblaciones urbanas y rurales (Contreras, 2023; Diaz, 2021). Por otra parte, Bedoya y Maldonado (2022) reporta que consumir frejol reduce considerablemente los porcentajes de colesterol total, llegando a reducir hasta en un 50 % el riesgo de cáncer de colon, próstata y mama, así como con la prevención y control de la anemia y la estabilización de los niveles de azúcar en la sangre en personas con diabetes. La diversidad de variedades de frejol presente en Ecuador es fundamental para la seguridad alimentaria, el desarrollo económico y la adaptación al cambio climático, reflejando la riqueza de los conocimientos ancestrales y la importancia de este cultivo en la región (Montalvo, 2021).

En Ecuador, se distinguen dos tipos de frejol común: los arbustivos, que suelen cultivarse en los valles de la Sierra como monocultivos, y los volubles, que se encuentran asociados principalmente con maíz (Yandún, 2022). Según Campos y Nicola (2022), el área total cultivada comprende alrededor de 121 mil hectáreas, lo que representa una fuente importante de ingresos económicos para pequeños y medianos agricultores en un 40 y 70 %. Además, el frejol (*Phaseolus vulgaris* L.) es una fuente de fitoquímicos, como compuestos fenólicos, que son metabolitos secundarios presentes en diversas especies vegetales y cuyo contenido puede variar según factores como la especie, variedad, la parte de la planta considerada, horas de exposición solar, condiciones de cultivo, entre otros. Estos compuestos fenólicos tienen propiedades antioxidantes debido a su capacidad para neutralizar los radicales libres (Heredia-Rodríguez et al., 2017). Ombra et al., (2016) señala la capacidad antioxidante y contenido fenólico total del frejol (*Phaseolus vulgaris* L.), demostrando que los frejoles pigmentados exhiben una alta capacidad antioxidante y mayor cantidad de fenoles totales, con respecto a los no pigmentados. Abdulrahman et al., (2021) menciona que en el frejol (*Phaseolus vulgaris* L.), los polifenoles se encuentran principalmente como ácidos fenólicos y flavonoides, siendo las variedades oscuras y

altamente pigmentadas las que exhiben un contenido más elevado de polifenoles. Claros (2021) indica que los compuestos responsables del color de la cubierta de los frejoles son las antocianinas, glucósidos, flavonoides y taninos condensados. En el frejol negro, las antocianinas predominantes son la delfinidina, petunidina y malvidina; en los pintos, destaca el kaempferol; mientras que, en los rosados, se encuentran la quercetina y kaempferol. Por otro lado, Ganesan & Xu (2017) señalan que las proantocianidinas y antocianinas son más abundantes en la testa del frejol, y que los taninos condensados y el 3-glucósido de cianidina se encuentran principalmente en la cubierta de las semillas. Las variedades de color rojo, negro y rosa obtienen su coloración de las antocianinas, mientras que las variedades con manchas amarillas claras o rosadas la adquieren de los taninos condensados.

Además, estudios experimentales realizados por Cerón & Tamayo (2021) en animales demostraron que los polifenoles del frejol (*Phaseolus vulgaris* L.) poseen propiedades antioxidantes, así como diversas actividades biológicas, como efectos antidiabéticos, antiobesidad, antiinflamatorio, antimicrobiano, anticanceroso, hepatoprotector, cardioprotector, neuroprotector, y osteoprotector. Por otro lado, Magallanes (2021) señala que los compuestos fenólicos totales varían en composición y cantidad entre diferentes especies, tejidos y etapas de desarrollo, así como en respuesta a factores ambientales. La capacidad antioxidante de estos compuestos se atribuye propiedades reductoras, que desempeñan un papel crucial en la neutralización o captación de radicales libres, así como en la quelación de metales de transición, lo que ayuda a prevenir y combatir los procesos oxidativos.

Objetivos

Objetivo General

Determinar el contenido fenólico y capacidad antioxidante, de frutos maduros de plantas de frejol (*Phaseolus vulgaris* L.) sanas y afectadas por la ceniza proveniente del Volcán Cotopaxi.

Objetivos Específicos

- Recolectar frutos maduros de *Phaseolus vulgaris* L. sanas y afectadas por la ceniza proveniente del Volcán Cotopaxi para el análisis fitoquímico.
- Determinar la concentración de compuestos fenólicos presentes en *Phaseolus vulgaris* L. sanas y afectadas por la ceniza proveniente del Volcán Cotopaxi
- Determinar la capacidad antioxidante de los extractos obtenidos de *Phaseolus vulgaris* L. sanas y afectadas por la ceniza proveniente del Volcán Cotopaxi mediante los métodos de DPPH, FRAP y ABTS.

Hipótesis

Las plantas de frejol (*Phaseolus vulgaris* L.) afectadas por la ceniza proveniente del Volcán Cotopaxi podrían experimentar una alteración en la producción de contenido fenólico y su capacidad antioxidante.

Capítulo II: Marco teórico

Origen e Historia

Dentro de los grupos de las leguminosas que poseen semillas comestibles, el frejol común es una de ellas, es uno de los alimentos más antiguos que conoce el hombre, ya que desde antiguamente se encontraban siendo parte importante de la dieta humana, especialmente en Centroamérica y Sudamérica, por el cual es una de las primeras plantas alimenticias que fueron domesticadas y posteriormente cultivadas. Se encuentran actualmente distribuidos en los cinco continentes por su importancia en la dieta de las personas. Diversas investigaciones arqueológicas ubican al frejol en diversos lugares como son en México, Guatemala, Perú y los altos Andes, lo cual le confiere su origen en América, el cual se remonta a países que van desde el norte de México hasta el norte de Argentina y los cultivos surgieron de muchos años de domesticación de espécimen silvestres de frejol con diferentes características presentes en sus semillas. Los frejoles comunes empezaron a ser cultivados hace aproximadamente 7000 años a.c. en el sur de México por las culturas Mesoamericanas de México, los cuales cultivaron diversos frejoles como eran frejoles blancos, negros y todas las demás variedades de colores, además que estas culturas al atravesar el continente americano permitieron que se dispersen las diferentes clases de frejol y ser cultivados por toda Suramérica debido al comercio con otras tribus (Castillo & Zambrano, 2020; Claros, 2021; Lara, 2019).

Donde los restos más antiguos de plantas domesticadas de frejol se encontraron en las cuevas de Coxcatlán, en el valle de Tehuacán, Puebla hace 4975 años a.c., además de que también han encontrado restos antiguos de frejol en la Cueva del Guitarrero, conocido como un sitio arqueológico de Perú, los cuales tienen una antigüedad que data alrededor de 2200 años a.c. En la época precolombina, el frejol obtuvo una gran importancia para la civilización azteca, llegando a ser incluido en los tributos de las poblaciones de menor poderío, como la selección hecha por estas culturas genero un gran número de diferentes formas y en consecuencia también

de diferentes nombres comunes dentro de los que destacan los de frejol, poroto, alubia, judía, frejol, nuña, habichuela, vainita y caraota. Y con la llegada de los españoles al continente americano, dio cabida a que esta leguminosa sea introducida al viejo mundo a comienzos del siglo XVI, años posteriores sería distribuida por comerciantes portugueses en la región de África Oriental, donde los árabes al mercader con los esclavos, fueron los encargados de diseminarlos a todo el territorio africano. Dándose una difusión rápida de frejol en Europa por su gran capacidad de adaptación a diversos climas (Húmedos y fríos), además de la aceptación como fuente alimentaria, que tubo incluso entre la nobleza, siendo así como se difundió por todo el mundo, de tal manera que hoy en día se ubican a los principales países productores en diversas zonas del planeta: India, China, Brasil, EE.UU., etc. El frejol al ser nativo de América, este fue difundido por todos los países que conformaban América, donde el Ecuador no fue la excepción, siendo así que investigaciones arqueológicas han encontrado restos de este cultivo desde hace 5.500 años en la cultura Valdivia (Avegno, 2023; Castillo & Zambrano, 2020; Lara, 2019; Martinez J., 2013).

Taxonómica del frejol (*Phaseolus vulgaris* L.)

Tabla 1

Clasificación taxonómica del frejol

Reino	Plantae
División	Magnoliopsida
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Rosidae
Orden	Fabales
Familia	Fabaceae
Subfamilia	Faboideae
Tribu	Phaseoleae
Subtribu	Phaseolinae
Género	<i>Phaseolus</i>
Sección	P. sect. Phaseolus
Especie	<i>P. vulgaris</i>
Nombre binomial	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.
Nombres comunes	Frejol, frijol, poroto, habichuela, judía, ejote, alubia, caraota

Nota. Datos tomados de Flores (2023).

Morfología del frejol (*Phaseolus vulgaris* L.)

Según Flores (2023) la morfología se estableció en base a los caracteres que componen cada órgano, visibles a escalas macroscópicas y microscópicas, las cuales se agrupan en constantes (características de alta heredabilidad) y variables (los resultados de la acción del medio ambiente sobre el genotipo), donde el frejol es una planta anual, herbácea, arbustiva y abundante hojas, de crecimiento vertical con tendencia a enredadera que requiere un apoyo

vegetal o artificial, crecen con preferencia en climas cálidos, pero resiliente a los cambios moderados de clima, posee ramas que proceden del tallo principal las cuales incidirán en la altura y dureza del tallo dependiendo de su densidad poblacional, además de tener hojas, tallos y vainas pubescentes.

Raíz

La planta de frejol posee un sistema radicular superficial que se encuentra entre los primeros 20 cm de profundidad del suelo, posee una sola raíz principal y varias raíces secundarias, en las raíces secundarias se encuentran las raíces terciarias y los pelos radicales, donde se forman los nódulos simbióticos con microorganismos que permiten proveer de nutrientes a la planta (Tayupanda & Tumbaco, 2022).

Hoja

Las hojas nacen desde los entre nudos del tallo principal y de ramas, las hojas verdaderas poseen una forma trifoliada con longitudes de hasta 12 cm y diámetros de unos 8 cm, y un foliolo ovoide y simétrico en su parte central pero asimétrico en su parte lateral. La orientación de las hojas varía según si la planta era cultivada (plana) o silvestre (erecta). Además, el incremento del área foliar se debió a la edad de la planta, excepto cuando se encontraba en la etapa de fructificación, cuando las hojas caen (Conforme, 2021; Morales & Genesis, 2023).

Flores

La flor es descrita como hermafrodita, zigomorfa, papilionácea y de colores variados. Tanto sus órganos masculinos como femeninos se encontraban encerrados en una envoltura floral, limitando las posibilidades de cruzamiento entre variedades, su polinización ocurre uno o dos días antes de que las envolturas florales se abran, además la flor posee un botón floral con una bractéola de forma ovalada o redonda, cubriendo el cáliz al abrirse la flor. Su morfología favorece la autopolinización y una simetría bilateral (Quijije, 2016).

Tallo

Tabango (2021) describió las características del tallo de la planta de frejol. Su altura oscila entre 0.40m a 2m dependiendo de la variedad y el entorno de cultivo, el tallo puede ser herbáceo o arbustivo, con una leve angulación llegando a ser erecto, postrado o semipóstrado, desarrollado desde el meristema apical de la semilla (inicio del ciclo reproductivo), y presenta una terminación de inflorescencia cuyas inserciones se desarrollaron en la flor y después en la vaina.

Fruto y Semilla

El fruto es el ovario desarrollado en forma de vaina con dos suturas que permiten la unión de las dos valvas. Las divergencias laterales estaban conformadas por los cotiledones y dos hojas primarias verdaderas, donde los cotiledones formaban la parte voluminosa de la semilla, este almacena los nutrientes como carbohidratos y proteínas, constituyendo la parte aprovechable de la semilla (Castillo & Zambrano, 2020).

Requerimientos edafoclimáticos

Suelo

Los cultivos de frejol requieren de suelos fértiles, que contengan una cantidad adecuada de materia orgánica, con texturas medianas (franco arcilloso) o moderadamente pesadas (franco arenoso, franco limoso), este tipo de plantas no toleran suelos compactos, si no aquellos que tengan una buena aireación y drenaje, por otra parte el control del pH es de importancia ya que controla mucha de las actividades químicas y biológicas que ocurren en el suelo y tiene una influencia indirecta en el desarrollo de las plantas, donde el pH recomendado oscilan entre 6.5 y 7.5, aunque también tolera pH de hasta 5.5, rangos en los cuales la mayoría de los nutrientes del suelo presentan una alta disponibilidad para la planta, por debajo de este rango generalmente los suelos presentan indicios de toxicidad por aluminio y/o manganeso lo cual los vuelve inadecuados para los cultivos de frejol (Bodego, 2023; Heredia, 2020; Huerta, 2020).

Temperatura

La planta de frejol tiene un desarrollo óptimo en temperaturas promedio entre 10 y 27 °C, siendo estas temperaturas predominantes a alturas entre 400 y 1200 msnm. Las temperaturas extremas (5°C o 40°C) a largos periodos, como las bajas temperaturas retardan el crecimiento de la planta, mientras que las altas temperaturas son toleradas por periodos cortos, y aunque favorecían el crecimiento de las plantas, también propiciaban el crecimiento de diversas enfermedades por la presencia de la humedad y atmosférica elevada. La exposición a temperaturas extremas por tiempos prolongados genera daños irreversibles (Huerta, 2020; Martínez Y, 2021).

Requerimiento Hídrico

La disponibilidad del agua es de gran importancia para que el crecimiento y desarrollo final de la planta. El frejol prefiere riegos ligeros y frecuentes en lugar de pocos riegos con abundante agua. El caudal del agua debe ser bajo para permitir una rápida infiltración y evitar la erosión en suelos con pendientes de hasta 2%. Aunque en terrenos con pendientes de 2 a 8 % se opta por curvas de nivel para que la disponibilidad del agua hacia la planta sea la adecuada (Huerta, 2020).

Luz

La planta de frejol es una especie de tiempos cortos. La duración de los días más largos tiende a retrasar su floración y madurez. La temperatura en conjunto con la luminosidad, pueden ser controlados mediante prácticas culturales, permitiendo escoger las épocas más adecuadas para la siembra, ya que proporciona las condiciones óptimas para su desarrollo (Martínez Y. , 2021).

Tabla 2

Etapas de desarrollo de la planta de frejol

Fase	Nombre	Descripción
Vegetativa	Germinación	La semilla absorbe agua, emerge la radícula y se transforma en raíz primaria
	Emergencia	Aparecen el 50 % de los cotiledones a nivel del suelo y posteriormente se desarrolla el epicotíleo
	Hojas Primarias	Se encuentran totalmente abiertas
	Primera hoja trifoliada	Se despliega la primera hoja trifoliada en el 50 % del cultivo así mismo se puede observar la segunda hoja trifoliada de tamaño reducido
	Tercera hoja trifoliada	La tercera hoja trifoliada se abre y las yemas de los nudos inferiores producen ramas
Reproductiva	Prefloración	Se observa el primer botón floral. En las variedades determinadas los botones florales empiezan a formarse en el último nudo del tallo o de la rama
	Floración	Inicia al abrirse la primera flor
	Formación de vainas	Aparece la primera vaina con longitud de 2.5 cm
	Llenado de las vainas	Empieza el llenado de la semilla en el 50 % de las plantas
	Madurez fisiológica	Las vainas comienzan a perder su pigmentación y empiezan a secarse y las semillas desarrollan el color típico de la variedad

Nota. Recuperado de Dobronski & Curay (2019).

Composición nutricional del grano de frejol

Según Pincay (2023) los granos de frejol poseen altos valores nutricionales, en el cual se destacan las proteínas (20,88%), carbohidratos (44,00%), grasa (1,16%) y fibra (5,07%), además de contener en menor proporción vitamina A (90 UI) y C (4 mg). Ormaza (2018) menciona que, dependiendo de la variedad del frejol, el contenido presente de proteínas puede variar de 14 a 33%, los cuales son ricos en aminoácidos como la lisina y la fenilalanina más tirosina, además de existir evaluaciones sobre la calidad de la proteína del frejol cocinado el cual puede llegar hasta el 70% en comparación con una proteína de origen animal a la cual se le asignaría el 100%.

Tabla 3

Composición química del frejol en 100 mg

Composición química	Porcentaje	Nutrientes, Minerales y Vitaminas	Proporción
Humedad	10 – 12 %	Fosforo	247 mg
Hidratos de C	58 – 60 %	Vitamina A	2 mg
Proteína	21 – 26 %	Vitamina B	0.57 mg
Grasa	1 – 2 %	Vitamina B2	0.17 mg
Fibra	3 %	Vitamina C	3 mg
Ceniza	3 – 3.5 %	Niacina	2.1 mg
Ca	86 mg	Hierro	7.6 mg

Nota. Recuperado de Avegno (2023).

Zonas de producción en Ecuador

El fruto del frejol denominado vainita, se caracteriza por su rápido crecimiento, lo que permite realizar tres a cuatro cosechas al año, siendo una ventaja para este cultivo, por tener altos rendimientos, ya que existen varias variedades de periodo corto (60 a 70 días), pero con una cosecha escalonada que dificulta la identificación del tiempo oportuno de cosecha de la

vaina, ya que algunas pueden llegar a desarrollarse en exceso y sobre madurarse (Bonifaz, 2020).

En el Ecuador las zonas de producción del cultivo de frejol se producen en las provincias del Carchi, Imbabura, Chimborazo y Bolívar pertenecientes a la región de la Sierra, donde es común la presencia de climas fríos que favorecen el desarrollo de este cultivo (Campues, 2023). En el Ecuador existen aproximadamente 35 000 hectáreas sembradas de cultivo de frejol, donde aproximadamente 8000 hectáreas son sembradas en la sierra norte, siendo la zona de mayor producción en el país, en promedio se cultivan de 30 a 40 quintales por hectárea (Monar, 2023).

Tabla 4

Superficie, producción y rendimiento de frejol en grano seco en Ecuador

Provincia	Superficie sembrada (ha)	Producción (t)
Azuay	5673	2337
Bolívar	4244	2588
Cañar	1702	300
Carchi	1799	1065
Cotopaxi	1323	786
Chimborazo	972	489
Imbabura	3077	1189
Loja	1667	500
Pichincha	665	234

Nota. Recuperado de Chalán (2019).

Zonas de producción en el mundo

Según Chávez & Vásquez-Guzmán (2021), los principales países productores de frejol a nivel mundial son la India (3.40 millones ton), Brasil (3.36 millones ton), Myanmar (2.50 millones ton), China (1.60 millones ton) y México (1.17 millones ton). La producción mundial es de aproximadamente 21 millones de toneladas, de las cuales Ecuador solo contribuye con el 0,2%.

Metabolitos de las plantas

Las plantas llevan a cabo una serie de reacciones químicas para sintetizar sustancias complejas a partir de otras más simples o descomponer sustancias complejas para obtener otras más simples. Este conjunto de procesos se conoce como metabolismo. En las plantas existen dos tipos de metabolismo: el primario y el secundario. Los metabolitos primarios son indispensables ya que se encuentran involucrados en el crecimiento, desarrollo y reproducción, mientras que los metabolitos secundarios participan en la defensa frente a potenciales predadores y patógenos (Lustre, 2022).

Metabolitos primarios

García, D. (2016) señala que los metabolitos primarios comprenden compuestos como carbohidratos, aminoácidos, ácidos grasos y ácidos orgánicos. Estos son imprescindibles para la vida ya que se llevan a cabo en las células de todos los seres vivos. Además, desempeñan funciones vitales en procesos como el crecimiento y desarrollo, respiración y fotosíntesis, así como en la síntesis de hormonas y proteínas. Encontrados en todas las especies vegetales dentro de amplios grupos filogenéticos y producidos casi por las mismas rutas metabólicas.

Metabolitos secundarios

Los metabolitos secundarios son moléculas presentes en los organismos vivos, como las plantas, permitiendo su relación con el entorno. Estos compuestos son empleados como mecanismo de defensa en respuesta a diferentes condiciones de estrés, como sequías, temperaturas extremas, alta radiación ultravioleta, infecciones de patógenos o ataques de

herbívoros. Su origen se deriva de los primarios, e integra una gran variedad de moléculas orgánicas que confieren características como olores, colores y sabores característicos de cada especie. Se estima que existen más de 100 000 metabolitos secundarios sintetizados por las plantas (Molina, 2018). Estos compuestos son clasificados según su origen biosintético en tres grupos: terpenoides, compuestos fenólicos y compuestos nitrogenados o alcaloides. (Reyes-Silva et al., 2020) Al ser una defensa química de las plantas, sus concentraciones varían según el tipo de metabolito, las características de la planta y las condiciones a las cuales son sometidas. Esta defensa puede radicar en ser compuestos que provoquen toxicidad a sus depredadores o un sabor desagradable que limita su consumo (Verdecia et al., 2021). Son empleados como principios activos de medicamentos y productos químicos, utilizados en diversos procesos farmacéuticos por las funciones que pueden otorgar como analgésicos, antibacterianos, antihepatotóxicos, antioxidantes, antivirales, antitumorales, fungicidas, inmunoestimulantes, entre otras. (Hernández-Alvarado et al., 2018)

Terpenoides

Existen muchos compuestos que pertenecen a la familia de los terpenoides, poseen propiedades antimicrobianas atribuidas a su composición química, estructura y grupos funcionales. Derivan de un precursor de cinco átomos de carbono, el isopreno, que clasifica a los terpenos según el número de unidades de isopreno presentes, siendo clasificados como mono-, sesqui-, diterpenoides, entre otros. Los terpenoides tienen baja toxicidad, pero de gran importancia por su actividad antimicrobiana, que incluye daño en la estructura y función de la membrana, inhibición de la biosíntesis y función de los ácidos nucleicos, interferencia de procesos metabólicos esenciales, inducción de la coagulación de los componentes citoplásmicos y la interrupción en la comunicación celular normal. Empleados como compuestos inhibidores del crecimiento bacteriano contra una amplia gama de bacterias Gram negativas y positivas (Gallegos-Flores et al., 2019).

Compuestos fenólicos

La naturaleza alberga una diversidad de compuestos con estructuras moleculares que incluyen uno o varios anillos fenólicos, dichos compuestos son denominados polifenoles, los cuales presentan una estructura química adecuada para ejercer actividad antioxidante, la cual está íntimamente relacionada con tales propiedades, cada polifenol posee una cierta actividad antioxidante, sin embargo en los frutos y vegetales, la capacidad antioxidante viene dada por la suma de las capacidades antioxidantes de cada uno de los componentes que lo conforman y por la interacción entre ellos, lo cual puede producir efectos sinérgicos o antagónicos en la neutralización de los agentes oxidantes ya que poseen la facultad de proteger a las células contra el daño oxidativo, además que su aplicación permite la estimulación del sistema inmune, regulación de la expresión de genes implicados en la proliferación y apoptosis celular, regulación del metabolismo de hormonas y efecto antiviral y antibacteriano (Ruiz et al., 2018).

Alcaloides

Los alcaloides son compuestos orgánicos que contienen nitrógeno en su estructura y se originan a partir de aminoácidos. Los alcaloides presentan electrones de nitrógeno libres (de donde proviene su nombre) lo que le confiere a la mayoría de alcaloides propiedades básicas, además de ser heterocíclicos. Estos compuestos son conocidos por sus efectos psicoactivos en el sistema nervioso central, son producidos como metabolitos secundarios en las plantas, donde actúan como defensa contra herbívoros e insectos. Incluso en dosis pequeñas, pueden causar diversas alteraciones en los animales que los consumen, incluida la intoxicación y, en casos extremos, la muerte. Su naturaleza básica les permite interactuar con diversos grupos aniónicos, inhibiendo funciones biológicas en bacterias, virus, hongos, insectos y vertebrados. Además, algunos alcaloides pueden desempeñar funciones de transporte y almacenamiento de nitrógeno, dependiendo de la especie y el compuesto alcaloide que contenga (Borja, 2021).

Metabolitos en el género *Phaseolus*

Zhang et al., (2022) menciona que las leguminosas presentan un metabolito secundario característico de ellas, la Rutina ($C_{27}H_{30}O_{16}$), un flavonoide relativamente grande, el cual desempeña un papel importante en el crecimiento y desarrollo de las plantas, la señalización hormonal, la facilitación de la germinación del tubo polínico y el microorganismo, las interacciones planta-microorganismo y el estrés biótico y abiótico. Investigaciones realizadas por Samal et al., (2023) concluyeron que el frejol contiene sapogenol en su composición química.

Estudios demuestran que los compuestos fenólicos se encuentran predominantemente en la cubierta de la semilla del frejol, en el cotiledón y la testa, lo que contribuye a asegurar los procesos reproductivos y la protección de las semillas (Quiroz-Sodi et al., 2018). Los compuestos fenólicos en las semillas son flavonas, monómeros y oligómeros de flavonoides, flavanonas, isoflavonoides, antocianinas, chalconas y dihidrochalconas. Sin embargo, los ácidos fenólicos y los compuestos fenólicos no flavonoides (ácido hidroxibenzoico e hidroxicinámico) se encuentran principalmente en los cotiledones del frejol (principalmente los ácidos p-cumárico, ferúlico y cinámico) y, en menor medida los taninos (Pérez-Perez et al., 2019; Rodríguez et al., 2021). La testa de los frejoles contiene mayores cantidades de proantocianidinas y antocianinas. Los taninos condensados y el 3-glucósido de cianidina también están presentes principalmente en las cubiertas de las semillas del frejol. Entre ellos, el ácido ferúlico es el ácido fenólico predominante en los frejoles comunes. (Ganesan & Xu, 2017)

Los diversos colores de la testa del frejol se relacionan con su contenido de determinados compuestos fenólicos (taninos, flavonoides, flavonoles, antocianinas, entre otros), de los cuales las antocianinas, confieren propiedades biológicas y medicinales como antioxidantes, desempeñando una función protectora ante el daño oxidativo causado por agentes externo, además de encontrarse en frejoles con testa de color rojo, rosa y negro y contribuir a sus diferentes coloraciones (Gutierrez et al., 2016; Mex-Álvarez et al., 2021).

Los frejoles pintos contienen principalmente kaempferol y su 3-O-glucósidos, los frejoles rojos oscuros contienen diglucósidos de kaempferol y quercetina, los frejoles negros contienen 3-O-glucósidos de malvidina, petunidina y delphinidina, mientras que los frejoles rojos claros que contiene trazas de quercetina 3-O-glucósido y sus malonatos (Hayat et al., 2014).

Métodos para determinar el contenido fitoquímico

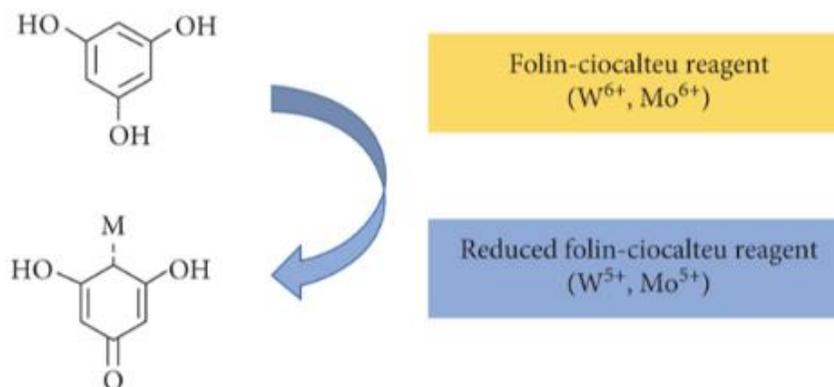
Ensayo de Folin-Ciocalteu

En 1927, el profesor Otto Folin y Vintila Ciocalteu propusieron el uso del reactivo de Folin-Ciocalteu (F-C) en condiciones alcalinas para la determinación de tirosina y triptófano, dos aminoácidos con anillo fenólico y reductores (Lamuela-Raventós, 2018). Posteriormente, este método fue adaptado para la determinación del contenido de polifenoles del vino tinto (Platzer et al., 2021). Ampliamente empleado en las industrias alimentaria y agrícola para cuantificar el contenido de fenólicos totales (Pico et al., 2020).

Folin-Ciocalteu (F-C) es un método que implica reacciones de reducción-oxidación (redox) altamente sensible y reproducible para cuantificar polifenoles en una muestra. Consiste en una mezcla de ácido fosfotúngstico ($H_3PW_{12}O_{40}$) y ácido fosfomolibdico ($H_3PMo_{12}O_{40}$) en un medio alcalino, que reacciona con fenoles y sustancias reductoras no fenólicas, formando cromógenos. Además, es empleado el carbonato de sodio (Na_2CO_3) como álcali para alcanzar un pH óptimo (al menos 10), crucial para la reacción adecuada entre los compuestos fenólicos y el reactivo F-C. El método F-C evalúa la capacidad reductora de una muestra, la cual se expresa generalmente en términos de contenido fenólico, mediante una reacción de transferencia de electrones que mide la capacidad antioxidante. Aunque el método puede detectar una variedad de compuestos fenólicos, estos pueden no responder de la misma manera en todos los casos (Carmona-Hernández et al., 2021; Lamuela-Raventós, 2018). El ensayo de F-C ofrece una estimación del contenido total de fenoles en la mayoría de muestras vegetales, basándose en la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes (Cortez et al., 2018).

Figura 1

Representación química del cambio de color en la reacción Folin-Ciocalteu



Nota. Proceso químico de Folin-Ciocalteu, donde la reacción redox en la que los elementos tungsteno (W) y molibdeno (Mo) experimentan una reducción a una forma iónica de +5, mientras que el anillo fenólico se oxida, en la que la presencia de compuestos fenólicos se puede cuantificar mediante la reducción de Mo^{6+} a Mo^{5+} , produciendo un color azul en la solución, medible espectroscópicamente a 730 nm (Carmona-Hernández et al., 2021).

La simplicidad del ensayo redox Folin-Ciocalteu puede carecer de especificidad debido a diversas interferencias, incluyendo proteínas, aminoácidos, nucleótidos, ácido ascórbico, azúcares y otros monosacáridos, aminas aromáticas, dióxido de azufre, tioles, ácidos grasos insaturados, Fe^{2+} , vitaminas, aldehídos, cetonas y ácidos orgánicos (Pico et al., 2020). Por lo tanto, para obtener una concentración precisa de fenoles totales, requieren realizar correcciones que consideren estas sustancias interferentes, con la finalidad de obtener exclusivamente la concentración de fenoles totales (Cortez et al., 2018).

Capacidad antioxidante

Los oxidantes son compuestos que tienden a donar oxígeno a otras moléculas, y muchas especies reactivas de oxígeno son radicales libres, son especies químicas con uno o más

electrones desapareados. Las plantas se exponen de modo constante a los oxidantes y/o radicales libres que se generan fisiológicamente. En las plantas, la producción de radicales libres aumenta durante el estrés biótico y abiótico, lo que puede tener efectos adversos en moléculas biológicas importantes como ácidos nucleicos, lípidos y proteínas, alterando su estado redox y aumentando el estrés oxidativo. Los antioxidantes son moléculas capaces de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas, contrarrestando los efectos de los radicales libres y otras especies reactivas. La capacidad antioxidante total (CAT) es definida como la capacidad de una sustancia para inhibir o dificultar la oxidación de un sustrato, incluso en cantidades muy pequeñas (< 1%, comúnmente 1-1.000 mg/L) (Benítez-Estrada et al., 2020).

Métodos para determinar la capacidad de antioxidante

La naturaleza ofrece una variedad de antioxidantes presentes en las plantas, lo que dificulta determinar la cantidad presente de cada sustancia en una planta. Para evaluar la actividad antioxidante, existen métodos basados en reacciones químicas, que se dividen principalmente en dos categorías: 1) Ensayos basados en la reacción por transferencia de átomos de hidrogeno (HAT) y 2) Ensayos basados en la reacción por transferencia de electrones (ET) (Naspud, 2018). Para determinar la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos, se puede realizar mediante un ensayo rápido, entre las pruebas más populares se incluyen los ensayos fotométricos de 2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS), 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC) y Folin-Ciocalteu (FC), donde los ensayos ABTS, DPPH y FC siguen un mecanismo SET (Platzer et al., 2021).

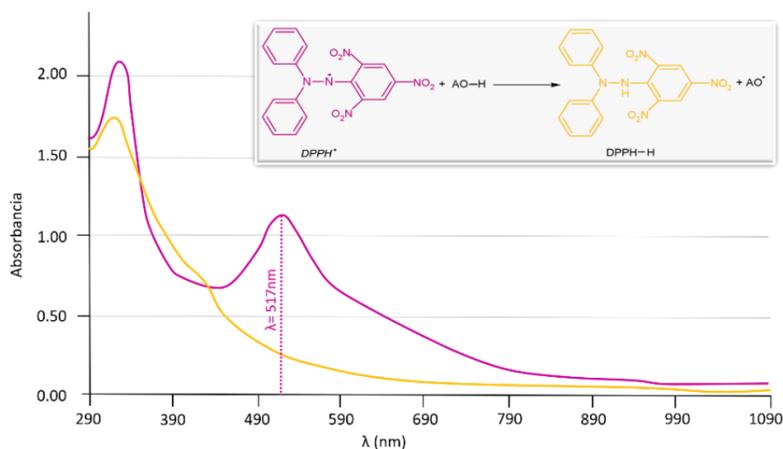
Ensayo 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH)

El método propuesto por Blois (1958) demostró por primera vez la capacidad del radical libre DPPH* para aceptar un átomo de hidrógeno (H +) de una molécula de cisteína. La molécula 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH*) es un radical libre estable debido a la deslocalización de un

electrón desapareado sobre la molécula completa, lo que evita su dimerización, como la mayoría de los radicales libres (Bohorquez, 2016; Orjuela, 2015). Este método implica medir la eliminación de radicales libres de los compuestos antioxidantes con DPPH. Inicialmente, el DPPH, de color violeta, se decolora gradualmente en presencia de sustancias antioxidantes. La cantidad de DPPH reducido se determina mediante espectrofotometría a 517 nm. La capacidad antioxidante de las muestras se evalúa midiendo el grado de decoloración que se provocan en una solución metanólica, además de pérdida de absorbancia cuando el DPPH entra en contacto con un antioxidante. Este cambio de color se monitorea espectrofotométricamente y se utiliza para determinar parámetros relacionados con las propiedades antioxidantes (Naspud, 2018; Palacios, 2018; Bohorquez, 2016).

Figura 2

Reacción entre el DPPH[•] y un antioxidante



Nota. Rosa: Espectro de absorción del radical DPPH[•], en ausencia de antioxidante. Amarillo: Espectro de absorción de la forma reducida del DPPH[•], DPPH-H, tras la reacción con el antioxidante (Moreno, 2021).

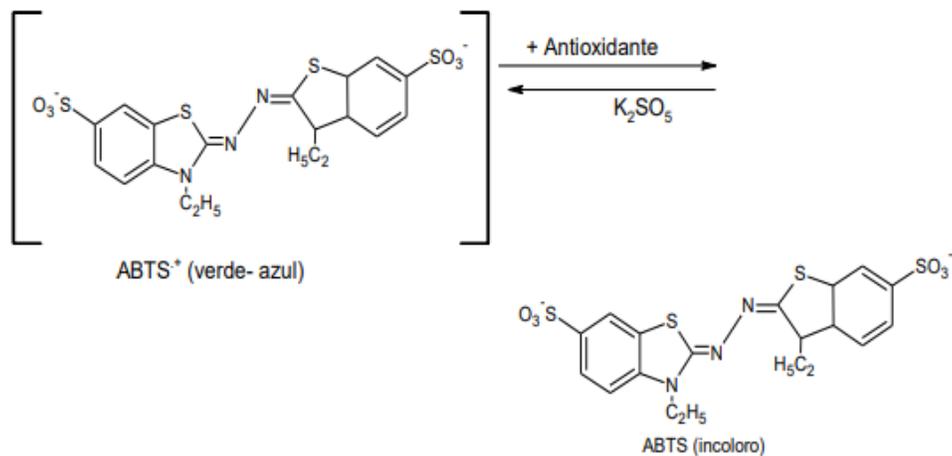
Ensayo 2,2'-azino-bis-(ácido 3-etilbenzoatiazolin-6- sulfónico) ABTS+

El ensayo constituye un método sencillo y eficiente para determinar la capacidad antioxidante. Se basa en la captación de radicales libres, que es el principal mecanismo de acción y conocido como una reacción de transferencias de electrones (SET). Un radical comúnmente utilizado en este método es el ABTS (Sal diamónica del Ácido 2,2' -azino-bis (3- etilbenzotiazolin-6-sulfónico) (Palacios, 2018). En este ensayo, la capacidad antioxidante es evaluada mediante la reducción del radical ABTS estable por compuestos antioxidantes, en comparación con un antioxidante estándar denominado Trolox. La aparición del compuesto coloreado ABTS+ (verde azulado) es inducida por el persulfato de potasio, y su máxima absorbancia se registra a 734 nm (Villacrés et al., 2023).

El método se fundamenta en la evaluación de la reducción en la intensidad del color del radical ABTS+, debido a su interacción con sustancias que donan hidrógeno o electrones. Consiste en la generación directa del radical catión ABTS*+ (verde-azul) mediante la reacción entre ABTS y el persulfato de potasio ($K_2S_2O_8$). Los antioxidantes reducen este radical a ABTS, y la disminución del color, expresado como porcentaje de inhibición del radical catión ABTS*+, se mide en relación con la concentración y el tiempo, utilizando el Trolox como estándar de referencia. El radical generado químicamente (persulfato potásico) ha sido validado por su estabilidad, reproducibilidad y menor costo. En ausencia de compuestos antioxidantes, el ABTS*+ es estable y de color azul; sin embargo, en presencia de fenoles, reacciona con donadores de hidrógeno, convirtiéndose en ABTS incoloro. La magnitud del cambio de color depende del tiempo, el tipo y la concentración de antioxidantes presentes en la muestra (Orjuela, 2015; Palacios, 2018).

Figura 3

Estructura del ABTS antes y después de la reacción con el antioxidante



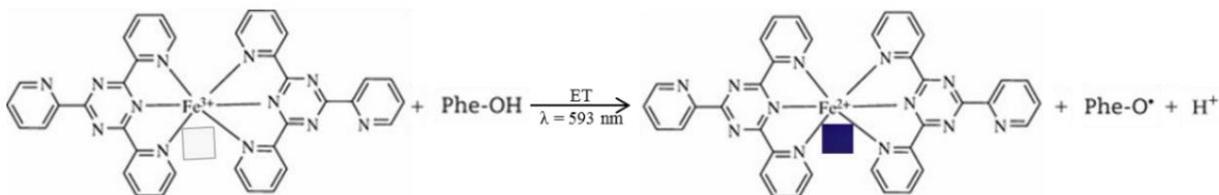
Nota. Mecanismo de reacción para el ensayo ABTS (Berrocal, 2018).

Ensayo del Poder Antioxidante Reductor de Iones Férricos (FRAP)

El método FRAP se lleva a cabo mediante la reducción de un complejo férrico incoloro, con 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ), a su forma de color ferroso (figura), el poder reductor indica que los antioxidantes son capaces de donar un electrón (Alonso, 2017). Una absorción alta a una longitud de onda de 700 nm indica un poder de reducción alto del fitoquímico, es decir, una actividad antioxidante alta (Duchitanga, 2019).

Figura 4

Reducción del complejo Fe (III)-TPTZ



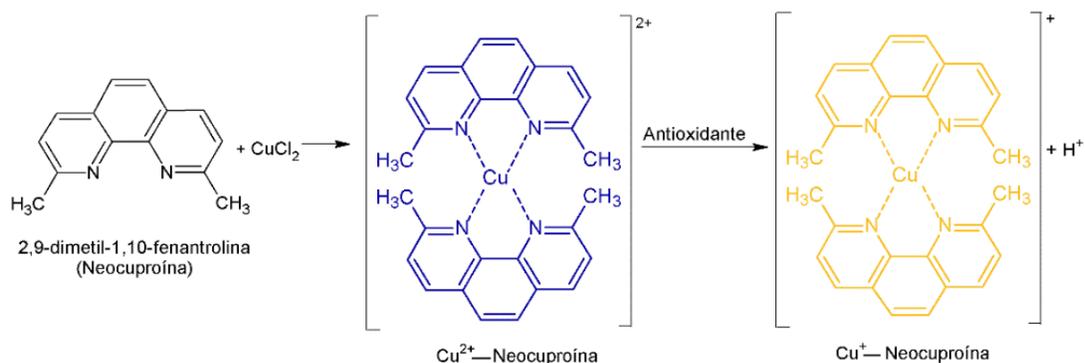
Nota. Mecanismo de reacción para el ensayo FRAP (Alonso, 2017).

Ensayo de la Capacidad Antioxidante Reductora del Ion Cúprico (CUPRAC)

El método CUPRAC es una variante del FRAP que emplea cobre en lugar de hierro, se utiliza para evaluar la actividad antioxidante de matrices alimentarias y extractos biológicos. Se fundamenta en una transferencia directa de electrones, midiendo la capacidad reductora de los antioxidantes para convertir los iones Cu^{2+} a Cu^+ (Sosa et al., 2023). El ensayo se centra en los cambios de absorción del complejo azul de Neocuproína (Nc) de Cu^{2+} , que se reducen al complejo amarillo de Nc de Cu^+ en presencia de antioxidante, con una absorbancia máxima a 450 nm. El ion Cu^{2+} funciona como oxidante al capturar un electrón y oxidar compuestos fenólicos. Este método ofrece ventajas como su simplicidad, linealidad en un amplio rango de concentraciones, capacidad para determinar antioxidantes debido a la solubilidad tanto hidro como liposolubles del cromóforo utilizando, y un pH óptimo cercano al fisiológico (Moreno, 2021).

Figura 5

Mecanismos de reacción en el método CUPRAC



Nota. Recuperado de Moreno (2021).

Ensayo de la capacidad de Absorción de Radicales de Oxígeno (ORAC)

El método ORAC evalúa la capacidad de captación de radicales peroxilo generados a partir de la molécula orgánica dihidrocloruro de 2,2'-azo-bis-(2-amidinopropano) (AAPH). Los antioxidantes presentes reaccionan con los radicales peroxilo, reduciendo la disminución en la

fluorescencia, permitiendo cuantificar su capacidad antioxidante. Este método se basa en la clásica transferencia de hidrógenos (TAH) y sigue la pérdida de fluorescencia de la ficoeritrina o fluoresceína en función del tiempo, tanto como sin antioxidantes. Los valores de ORAC se expresan como equivalentes de Trolox. Aunque resulta efectivo, el ensayo ORAC requiere más tiempo que otros métodos, aproximadamente 60 minutos más que FRAP o ensayo Randox-TEAC para cuantificar los resultados (Moreno, 2021; Huaccho, 2016; Huet, 2017).

Actividad volcánica en Ecuador

Ecuador se encuentra ubicado en el “Cinturón de Fuego del Pacífico”, que es una línea de volcanes terrestres, submarinos y fallas geológicas. Una clara evidencia de esta actividad es el arco volcánico ecuatoriano, que consta de 84 centros eruptivos, varios de ellos activos y ubicados en proximidad unos de otros. En la Cordillera Oriental y con 5.897 m se encuentra el volcán activo más alto del mundo, el Cotopaxi, siendo el más destacado y monitoreado del país debido a su ubicación y su potencial destructivo (Estrada, 2023; Proaño et al., 2023).

Volcán Cotopaxi

El Cotopaxi es un volcán con forma cónica altamente simétrica, cuyos glaciares han tenido poco impacto debido al reciente origen de estos. Los flancos del volcán tienen una inclinación de alrededor de 30 grados, y su base tiene un diámetro de aproximadamente 15 km. En la lengua ancestral de los Panzaleos, Cotopaxi se traduce como "Garganta de fuego". El cráter del volcán tiene una forma ovalada con dimensiones de 800x600 m y una profundidad de 200 m desde el borde hasta el fondo. Este volcán activo emergió durante el Pleistoceno medio, aproximadamente entre un millón y 200.000 años, sobre capas volcánicas aún más antiguas (Albán, 2019)

Erupción Volcánica

La erupción volcánica es el proceso mediante el cual rocas fundidas a altas temperaturas emergen desde el interior de la Tierra hacia la superficie. Este fenómeno es desencadenado por

el aumento de temperatura en el magma alojado en el interior del manto terrestre y está influenciado por diversos factores, como la temperatura de la lava, la presión de los gases contenidos y estado del conducto volcánico (Albán, 2019). Durante la erupción, se liberan varios materiales y factores característicos. Los piroclastos son fragmentos sólidos, compuestos mayormente por rocas ígneas volcánicas como basalto y andesita, que son expulsados del volcán. Las cenizas volcánicas consisten en partículas finas de piroclastos lanzadas a gran altura por el volcán. La lava, que es la roca fundida liberada hacia la superficie, fluye por las laderas del volcán. Además, la liberación del magma produce gases volcánicos, como vapor de agua, dióxido de carbono y dióxido de azufre. Estos gases pueden desencadenar fenómenos como sismos y tormentas eléctricas debido a su impacto en la conductividad eléctrica del aire circundante (Alvarez, 2023).

Origen de la ceniza volcánica

La ceniza volcánica, compuesta por partículas diminutas, es el producto de la fragmentación del magma en el interior de los volcanes. Se forma cuando la roca se desintegra en polvo o arena debido a la actividad volcánica, y su tamaño inferior a 2 mm. Estas partículas pueden elevarse en columnas eruptivas a grandes alturas y ser transportadas por el viento. A pesar de lo que su nombre podría sugerir, la ceniza volcánica no es un material quemado, sino más bien el producto de la fragmentación magmática (Vargas, 2020). Por consiguiente, la presencia de cenizas volcánicas en la atmósfera representa un serio riesgo para las operaciones de aviación civil, además de ser perjudiciales para la salud humana (Albán, 2019).

Composición de la ceniza volcánica

La ceniza volcánica es una mezcla de fragmentos de roca, minerales y vidrio volcánico que se producen durante erupciones explosivas de un volcán, estos materiales son abrasivos, no se disuelven en agua y pueden contener gases volcánicos, con un olor característico a azufre (Paucar et al., 2023). Su composición principal está conformada por óxidos de silicio, aluminio,

hierro y en menor porcentaje de óxidos de metales alcalinos y alcalinotérreos, como CaO, MgO, Na₂O, K₂O; además de sales solubles que resultan de la condensación de ácidos minerales fuertes durante su formación. La composición química de la ceniza está directamente relacionada con la composición química del magma del que se origina (Sánchez et al., 2018). La ceniza proveniente del volcán Cotopaxi tiene la siguiente mineralogía detallada en la Tabla 5.

Tabla 5

Mineralogía de la ceniza volcánica del volcán Cotopaxi

Mineral		%
SiO ₂	Óxido de silicio	63.35
Al ₂ O ₃	Óxido de aluminio	17.36
CaO	Óxido de calcio	4.55
MgO	Óxido de magnesio	1.17
FeO	Óxido de hierro (III)	5.5
NaO	Óxido de sodio	5.29
KO	Óxido de potasio	2.10

Nota. Recuperado de Llumigustin & Pallango (2022).

Implicaciones de la ceniza volcánica en plantas

La ceniza volcánica tiene el potencial de alterar el equilibrio de los ecosistemas, lo que puede resultar en efectos negativos para las plantas. Cuando entra en contacto con el suelo, puede provocar efectos tóxicos directos o indirecto al cambiar el pH del suelo y la liberación de sales y metales tóxicos. Dado que las plantas obtienen nutrientes del suelo, la presencia de ceniza volcánica puede afectar negativamente su crecimiento, desarrollo, nutrición, estructura, hidratación e interacciones biológicas (Kumar & Kumar, 2023).

Los suelos originados por la acumulación de materiales volcánicos, denominados Andioles, presentan propiedades únicas que los distinguen de otros tipos de suelos. La presencia de ceniza volcánica en estos suelos puede mejorar su fertilidad, especialmente en suelos tropicales relativamente antiguos, lo que favorece una agricultura diversa. La deposición de tefra, tiene un impacto significativo y duradero en la agricultura en las áreas cercanas a los volcanes, afectando tanto las tierras de cultivo como pastizales, la horticultura y la salud del ganado (Arnalds, 2013).

La actividad agrícola en áreas montañosas volcánicas y valles adyacentes conlleva enfrentarse a condiciones extremas durante las erupciones volcánicas. Las variaciones en la estructura de la vegetación, como la forma y densidad de tallos y hojas, pueden influir en la cantidad de ceniza volcánica capturada y, por ende, en el espesor de la capa de ceniza retenida en el suelo. La deposición de tefra sobre las hojas de las plantas puede causar daños directos, como abrasión de las hojas y/o inducir la pérdida de follaje, así como daños indirectos al alterar el equilibrio hídrico y nutricional del suelo, lo que afecta la descomposición de la materia orgánica y la disponibilidad de nutrientes. Aunque la ceniza volcánica puede ser perjudicial para algunas especies vegetales, también puede mejorar la disponibilidad de carbono y nitrógeno en el suelo, beneficiando el crecimiento de las plantas. La capacidad de recuperación de los ecosistemas afectados estará principalmente determinada por el espesor de la capa de ceniza volcánica depositada (Saputra et al., 2022).

Capítulo III: Metodología

Origen de las muestras

Se obtuvieron las muestras de frutos maduros de *Phaseolus vulgaris* L. sanas y afectadas por la exposición de ceniza volcánica, en la provincia de Cotopaxi, en la ciudad de Latacunga. La muestra de *Phaseolus vulgaris* L. afectada por cenizas, recolectada en el barrio Chinchil de Robayos se encuentra ubicado a una altitud de 3080 msnm, y la temperatura oscila entre los 10 y 17 °C. La muestra recolectada de *Phaseolus vulgaris* L. sana se encuentra ubicado en el sector de Alaques a una altitud de 2860 msnm, sus coordenadas son: 0°50'37.6 de latitud sur y a 78°35'15.5 de longitud oeste, y la temperatura oscila entre 15 y 20 °C.

Obtención de especímenes vegetales

Se realizó un muestreo aleatorio de las vainas con las semillas de 7 plantas de frejol (*Phaseolus vulgaris* L.) por cada sitio de muestreo. Las vainas recolectadas mostraban una coloración café claro con matices de color rojo, donde se recolectaron 5 granos de cada planta y se ubicaron en un recipiente, lo mismo se realizó para las plantas de frejol con presencia de ceniza. Para el transporte de las muestras, se envolvieron en papel absorbente cada una de las muestras, se etiquetaron, y se guardaron en una funda ziploc, para después utilizar un recipiente isotérmico (cooler), donde se transportaron las muestras, se empaquetaron y etiquetaron adecuadamente para su identificación. Posteriormente, se llevaron las muestras al laboratorio del CICTE ubicado en la Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE en Sangolquí, se guardaron en refrigeración hasta el momento de la extracción.

Tratamientos de los granos de frejol (*Phaseolus vulgaris* L.)

Para el presente estudio se seleccionaron los mejores granos de frejol, los cuales se caracterizaron por su estado de sanidad y ausencia de manchas de pudrición. Se priorizó únicamente la recolección de los granos que se encontraran en estado de madurez, y con colores concentrados en su cobertura.

Obtención de los extractos de frejol (*Phaseolus vulgaris* L.)

Para la obtención de los extractos se empleo el protocolo de extracción de principios activos que fue establecido por Claros (2021). Para ello, se utilizaron granos de frejol fresco y maduros, donde a los frejoles se los debe triturar en un mortero hasta obtener la harina de frejol (muestras) la cual será posteriormente pesada en la balanza para obtener 1 g de muestra la cual será macerada con 10 mL de etanol (96 %) en tubos Falcon de 15 mL, con la ayuda de una varilla se agita la muestra con el etanol, para después llevar a refrigeración a una temperatura de 5 °C durante un periodo de 72 horas para permitir el reposo de los extractos. Para las evaluaciones posteriores, se aplicó cada tratamiento por triplicado y todos los ensayos fueron medidos su absorbancia en un espectrofotómetro UV-Vis.

Determinación del carácter antioxidante por el método DPPH

El carácter antioxidante se determinarán mediante el método DPPH según el metodo descrito por Ramírez (2023). Esto se logra porque el DPPH es un radical libre, el cual posee un electrón impar en el átomo de nitrógeno, si se da una deslocalización del electrón sobrante da como resultado una coloración intensa purpura, el cual tiene una absorción en la longitud de onda de alrededor de 520 nm. Así mismo, esta coloración violeta se pierde debido a que si se pone en contacto con una sustancia antioxidante esta le dona un átomo de hidrogeno a este radical libre, el cual cambia de tonalidad a amarillo. Donde se utiliza el reactivo DPPH previamente preparado, el cual se diluyo con etanol al 96 % hasta obtener una absorbancia de 0.7 ± 0.05 , la cual se midió por espectrofotometría a 517 nm. En el ensayo, para cada muestra se realizó tres repeticiones, para ello en cada tubo se le agrego 2.9 del reactivo, posterior a ello, se le agrega 0.1 mL de muestra. Los tubos fueron incubados durante 30 minutos en ausencia de luz, posteriormente se midió la absorbancia, obteniendo tres mediciones por tubo analizado. La muestra control se realizó de la misma manera, excepto que en cambio de muestra se agregó etanol.

Determinación del carácter antioxidante por el método ABTS

El carácter antioxidante se determinará mediante el método ABTS según el protocolo descrito por Mendoza (2018). La actividad antioxidante se determinó mediante la metodología ABTS•+ (2,2´azinobis(-3 etilbensotiazolin-6-ácido sulfónico) (7 mM), donde se generó primero al radical ABTS por medio de una reacción de oxidación, en una solución de per-sulfato de potasio (12 h antes de ser usado) y posteriormente se evaluó la capacidad a ser neutralizado con los germinados. Una vez formado el radical, este se diluyó con etanol hasta obtener un valor de absorbancia comprendido entre 0.76 (± 0.1) a 754 nm (longitud de onda de máxima absorbancia). Posteriormente se colocaron 980 μ L del radical ABTS y se mezclaron con 20 μ L de los extractos de los germinados con el fin de evaluar la concentración inhibitoria porcentual. La mezcla se dejó reposar por 7 minutos a temperatura ambiente, protegida de la luz. Posteriormente se leyó la absorbancia a 754 nm. El blanco se preparó utilizando etanol en lugar de la muestra.

Determinación del carácter antioxidante por el método FRAP

La determinación del carácter antioxidante se determinará mediante el método FRAP según el protocolo descrito por Agudo (2010). En este método se determina la capacidad antioxidante de forma indirecta. Se basa en el poder que tiene una sustancia antioxidante para reducir el Fe^{3+} a Fe^{2+} que es menos antioxidante. Se elaboro una solución FRAP, para ellos se tomó 100 mL de tampón acetato (300 mM) con un pH de 3.6, adicional 10 mL de FeCl_3 en H_2O (20 mM) y 12 mL de H_2O destilada. La prueba se ejecutó en tubos de ensayo, donde se agregó en ellos 300 μ L de la solución FRAP, después se agregó 100 μ L de muestras y 300 μ L de H_2O destilada. Los tubos fueron incubados durante 4 minutos en ausencia de luz a temperatura ambiente, la prueba se ejecutó por triplicado. El blanco se realizó de la misma manera, excepto que en cambio de muestra se agregó etanol. Los análisis se realizaron mediante el espectrofotómetro midiendo el cambio de absorbancia a una longitud de onda de 593 nm.

Determinación del contenido de fenoles totales (TPC)

Los compuestos fenólicos totales se determinarán mediante el método colorimétrico Folin-Ciocalteu según el protocolo descrito por López- Froilán et al., (2018). Donde se mezcló 1.0 ml de muestra diluida (1:10) o estándar con una pequeña cantidad de agua y 1,0 ml del reactivo FC; después de 4 min, 4 mL de Na₂CO₃ (100 mg/L) y luego el matraz se llenó hasta 25 mL con agua destilada. La mezcla se incubó en la oscuridad a temperatura ambiente durante 90 minutos, la prueba se ejecutó por triplicado. El blanco se realizó de la misma manera, de muestra se agregó etanol. Los análisis se realizaron mediante el espectrofotómetro midiendo la absorbancia a una longitud de onda de 750 nm. Los resultados se calcularon según una regresión lineal del ácido gálico (0–250 mg de GAE/L) y expresada como miligramos de ácido gálico por litro.

Análisis estadístico

Factores de estudio

Los factores de estudio serán la determinación del contenido fenólico y la capacidad antioxidante en frutos maduros de plantas de frejol (*Phaseolus vulgaris* L.) sanas y afectadas por la exposición de ceniza volcánica.

Unidad experimental

La unidad experimental será los granos de frejol (*Phaseolus vulgaris* L.) sanas y afectadas por la exposición de la ceniza proveniente del Volcán Cotopaxi.

Tratamientos

El análisis estadístico del contenido fenólico se hará mediante un diseño experimental unifactorial. En este diseño, se consideran un método para determinar el contenido de los compuestos fenólicos mediante la determinación de fenoles totales, y se evaluarán dos muestras de la misma especie, pero con diferente exposición a la ceniza. Para asegurar la robustez y la precisión de los resultados, el ensayo se replicará tres veces, tal como se muestra en detalle en la Tabla 6.

Tabla 6

Diseño experimental unifactorial para el análisis del contenido fenólico en granos de frejol (Phaseolus vulgaris L.) sanas y afectadas

		Método
		Fenoles Totales
Ceniza	Presencia	3
	Ausencia	3

Para el análisis estadístico de la capacidad antioxidante se planteará un diseño factorial 2x3, donde se establecerá dos muestras de *Phaseolus vulgaris* L. sanas y afectadas, y tres métodos para determinar el porcentaje de inhibición empleando los ensayos DPPH, ABTS y FRAP. El experimento se realizará con tres replicas.

Tabla 7

Diseño experimental factorial para la determinación de la capacidad antioxidante en plantas de Phaseolus vulgaris L. sanas y afectadas

		Método		
		DPPH	ABTS	FRAP
Ceniza	Presencia	3	3	3
	Ausencia	3	3	3

Se realizaron los experimentos para el contenido fenólico un diseño unilateral y para la capacidad antioxidante un diseño completamente al azar (DCA), y se analizará la varianza para cada uno de los diseños experimentales. Para comparar las medias, se empleará la prueba de Duncan, considerando como significativas aquellas diferencias con un valor de $p < 0,05$.

Diseño de análisis de varianza

El diseño de análisis de varianza esta detallado en la Tabla 8, abarcara un diseño factorial mixto 2x3 para el estudio de la capacidad antioxidante.

Tabla 8

Diseño de ANOVA para el diseño factorial propuesto de 2x3 para granos de plantas de Phaseolus vulgaris L. sanas y afectadas

Fuente	Grado de libertad (GL)	Carácter antioxidante
Ceniza (A)	a-1	1
Método (B)	b-1	2
Efecto AB	(a-1) (b-1)	2
Error (E)	a.b.(n-1)	12
Total	a.b.n-1	17

Nota. El valor de “a” corresponde al número de prevalencia de ceniza a emplear en el ensayo. Por tanto, para el carácter antioxidante (a=2), “b” al número de métodos, es decir para el carácter antioxidante (b=3). Finalmente “n” significa el número de replicas (n=3).

Para el análisis de varianza del diseño unifactorial para la determinación del contenido fenólico, se realizará un análisis de ANOVA y una prueba de Duncan.

Además, para ambos diseños se utilizó la prueba de Levene para comprobar la homogeneidad de las varianzas fijándose la significación en $p > 0,05$.

Todos los análisis se llevarán a cabo mediante InfoStat, con un nivel de significancia establecido en $\alpha = 0,05$.

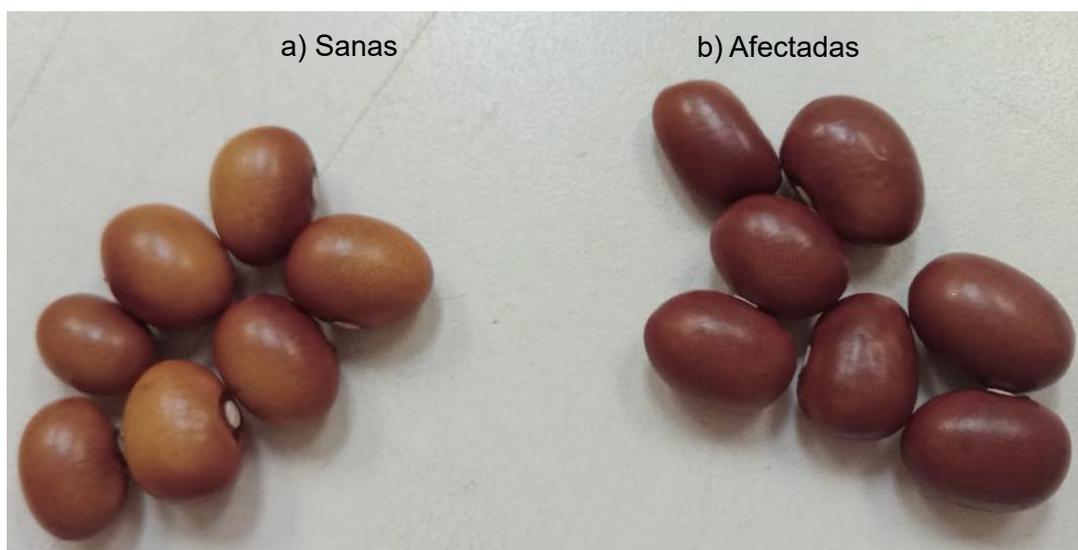
Capítulo IV: Resultados

Obtención de los frutos

Se recolectaron dos muestras de frutos de la planta *Phaseolus vulgaris* L. sanas y afectadas por la exposición de ceniza proveniente del Volcán Cotopaxi.

Figura 6

Granos de Phaseolus vulgaris L. de las muestras en estudio



Nota. En la imagen se observa los granos maduros a) muestra sana con ausencia de ceniza (b) muestra afectada con presencia de ceniza.

Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante se estimó mediante tres métodos: DPPH, ABTS y FRAP.

Tabla 9

Tabla de contingencia de respuestas experimentales

		Métodos para determinar la capacidad antioxidante								
		DPPH			ABTS			FRAP		
		(μmol TRX/g fw)			(μmol TRX/g fw)			(μmol Fe ²⁺ /g fw)		
Ceniza	Presencia	9.008	9.162	9.136	8.002	8.324	8.514	3.704	4.094	3.420
	Ausencia	5.968	5.659	6.123	4.826	4.944	4.755	2.350	2.450	2.233

Nota. Es una tabla de doble entrada con concentraciones que fueron transformados por medio de una curva de calibración usando como solución estándar Trolox (TRX) y FeSO₄* 7H₂O.

Determinación del carácter antioxidante por el método DPPH

Tabla 10

Tabla de contingencia con la estadística descriptiva para el ensayo DPPH

		DPPH (μmol TRX/g fw)				
		R1	R2	R3	Media ± desviación estándar	Error estándar
Ceniza	Presencia	9.008	9.162	9.136	9.10 ± 0.08	0.05
	Ausencia	5.968	5.659	6.123	5.92 ± 0.24	0.14

Nota. Los datos están expresados en términos de concentraciones.

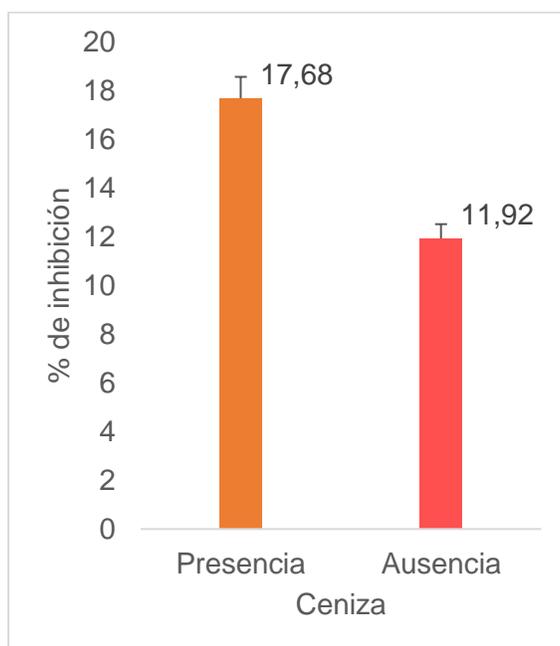
De acuerdo con los presentes resultados que se muestran en la Figura 7, el porcentaje de inhibición del radical DPPH dio un poder reductor del 17.68 % en frejoles que tenían presencia de ceniza y un 11.92 % en frejoles en ausencia de ceniza.

La concentración determinada en la capacidad antioxidantes es mayor en plantas afectadas por ceniza volcánica con una media de 9.10±0.08 μmol TRX/g fw, mientras que las

plantas sanas con ausencia de ceniza volcánica presentaron una media de 5.92 ± 0.24 μmol TRX/g fw como se indica en la tabla 10.

Figura 7

Porcentaje de inhibición de las plantas de *Phaseolus vulgaris* L. sanas y afectadas en estudio por el método DPPH



Nota. Los datos representan la media y error estándar con un nivel de confianza del 95%.

Tabla 11

Tabla de contingencia con la estadística descriptiva para el ensayo ABTS

	ABTS (μmol TRX/g fw)				
	R1	R2	R3	Media \pm desviación estándar	Error estándar
Ceniza					
Presencia	8.002	8.324	8.514	8.28 ± 0.26	0.15
Ausencia	4.826	4.944	4.755	4.84 ± 0.10	0.06

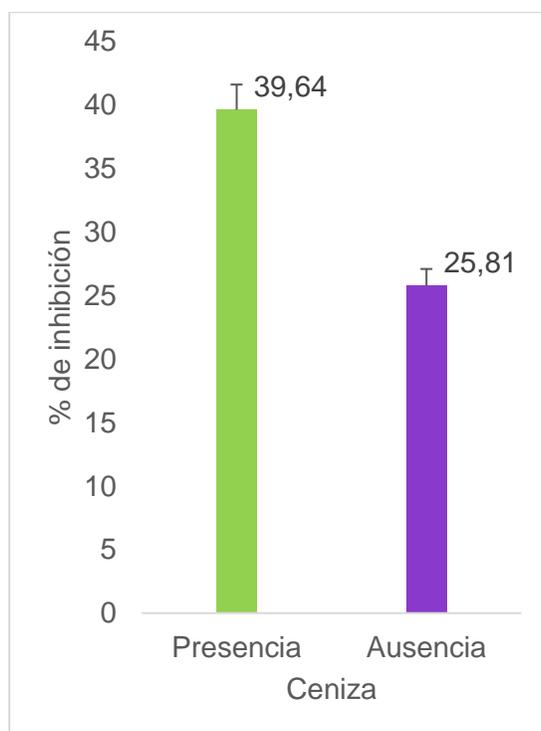
Nota. Los datos están expresados en términos de concentraciones.

La Figura 8 representa el porcentaje de inhibición del radical ABTS, se evidenció una capacidad reductora del 39.64 % en frejoles que tenían presencia de ceniza y un 25.81 % en frejoles en ausencia de ceniza.

La concentración determinada en la capacidad antioxidantes es mayor en plantas afectadas por ceniza volcánica con una media de $8.28 \pm 0.26 \mu\text{mol TRX/g fw}$, mientras que las plantas sanas con ausencia de ceniza volcánica presentaron una media de $4.84 \pm 0.10 \mu\text{mol TRX/g fw}$ como se indica en la tabla 11.

Figura 8

Porcentaje de inhibición de las plantas Phaseolus vulgaris L. sanas y afectadas en estudio por el método ABTS



Nota. Los datos representan la media y error estándar con un nivel de confianza del 95%.

Determinación del carácter antioxidante por el método FRAP

Tabla 12

Tabla de contingencia con la estadística descriptiva para el ensayo FRAP

		FRAP ($\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g fw}$)				
		R1	R2	R3	Media \pm desviación estándar	Error estándar
Ceniza	Presencia	3.704	4.094	3.420	3.74 \pm 0.34	0.20
	Ausencia	2.350	2.450	2.233	2.34 \pm 0.11	0.06

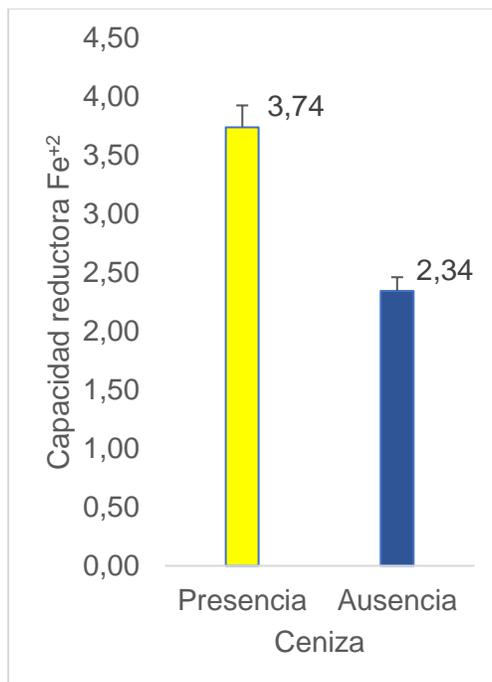
Nota. Los datos están expresados en términos de concentraciones.

Determinación el carácter antioxidante por el método ABTS

Los resultados de la capacidad reductora por el método FRAP se reportan en la Tabla 12 y están representados en la Figura 9, mostrando un mayor potencial reductor del ion Fe^{2+} en plantas con presencia de ceniza volcánica con una concentración de $3.74 \pm 0.34 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g fw}$, mientras que, en las plantas con ausencia de ceniza volcánica presentó una concentración menor siendo $2.34 \pm 0.11 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g fw}$.

Figura 9

Porcentaje de inhibición de plantas de *Phaseolus vulgaris* L. sanas y afectadas en estudio por el método FRAP



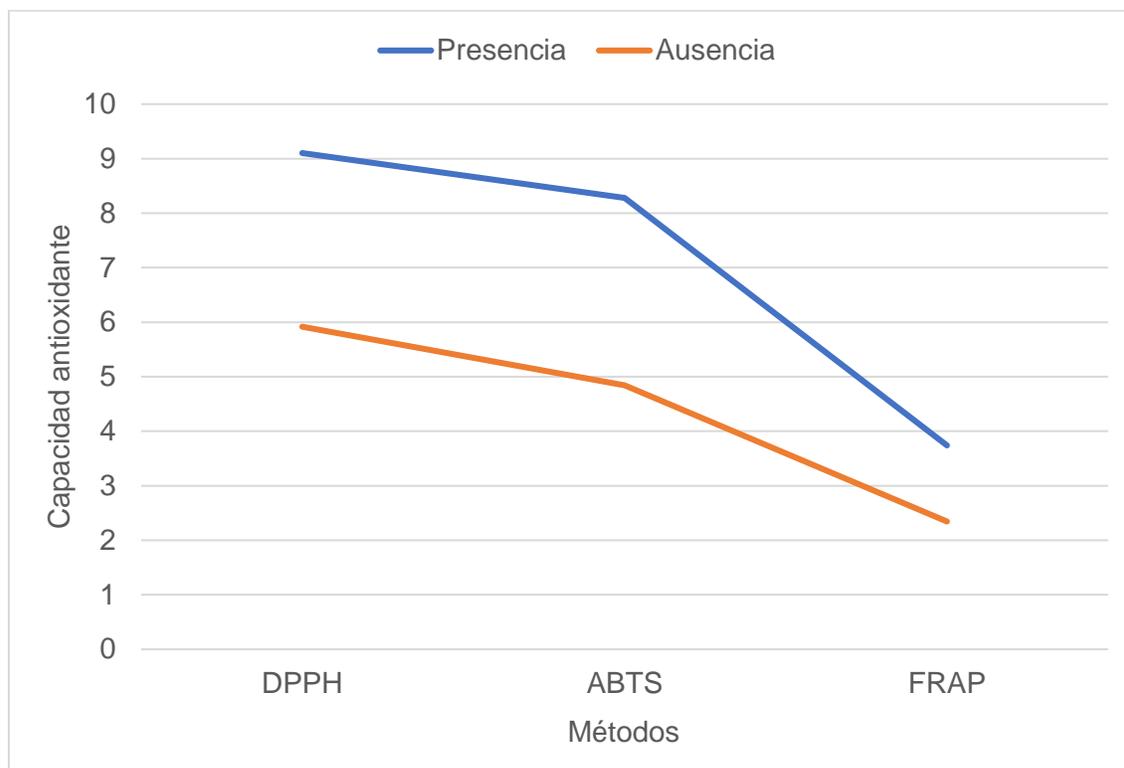
Nota. Los datos representan la media y el error estándar con un nivel de confianza del 95%.

Análisis estadístico

En la Figura 10 se muestra el análisis cuantitativo de la determinación de la capacidad antioxidante donde no se observa una interacción de la respuesta experimental (*Phaseolus vulgaris* L. sanas y afectadas) ya que cambia según la combinación de los niveles de los factores (métodos para la determinación de la capacidad antioxidante). Esto se corroboró mediante un análisis de varianza ANOVA (Apéndice A), se empleó con la finalidad de evaluar los efectos de los factores y su interacción, evidenciando un $P < 0,05$, es decir, la capacidad antioxidante depende si las plantas fueron afectadas o no por la ceniza volcánica y del ensayo empleado.

Figura 10

Grafica de interacción métodos vs ceniza



Nota. La concentración de la capacidad antioxidante en promedio es mayor en los métodos DPPH y ABTS para plantas sanas con ausencia de ceniza, sin embargo, en FRAP es ligeramente mayor en plantas sanas con ausencia de ceniza.

El test de Shapiro-Wilk permitió verificar los supuestos de normalidad donde se corroboró que los resultados presentados cumplen una distribución normal (Diagrama Q-Q plot, Histograma, ver Apéndice A) ya que se obtuvo un $P = 0.7913$, siendo mayor al valor de confianza $p=0,05$.

La homocedasticidad se verificó con el Test de Levene, donde los resultados exhibieron un $P > 0,05$, es decir, existe una homogeneidad en las varianzas.

El test de Duncan se explica en la Tabla 13, donde reflejó que el poder reductos de muestras de *Phaseolus vulgaris* L. es estadísticamente significativo en relación al método y

ceniza. Sin embargo, en el caso de la muestra con presencia de ceniza – DPPH si fue significativamente diferente ($p=0,001$ Infostat), como se detalla en el Apéndice A.

Tabla 13

Prueba de Duncan del carácter antioxidante del diseño factorial 3 x 2

Método	Medias	n	E.E.	
FRAP	3.04	6	0.09	A
ABTS	6.56	6	0.09	B
DPPH	7.51	6	0.09	C

Nota. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p>0.05$)

Ceniza	Medias	n	E.E.	
Ausencia	4.37	9	0.07	A
Presencia	7.04	9	0.07	B

Nota. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p>0.05$)

La prueba de Duncan del factor: ceniza muestra que la media del carácter antioxidante de la muestra con cenizas es estadísticamente diferente y mayor a la media de la muestra sin cenizas. En cambio, la prueba de Duncan para el factor: método determina que la media del carácter antioxidante del método DPPH ($7.51 \mu\text{mol TRX/g fw}$) es mayor que la media del método ABTS ($6.56 \mu\text{mol TRX/g fw}$), sin embargo, no se puede establecer una relación directa con la media del método FRAP ($3.04 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g fw}$) debido a que este resultado se encuentra en otras unidades de medida.

Compuestos fenólicos

Para la determinación del contenido fenólico se estimó un método: TPC

Determinación del contenido de fenoles totales

Tabla 14

Tabla de contingencia con la estadística descriptiva para el ensayo fenoles totales

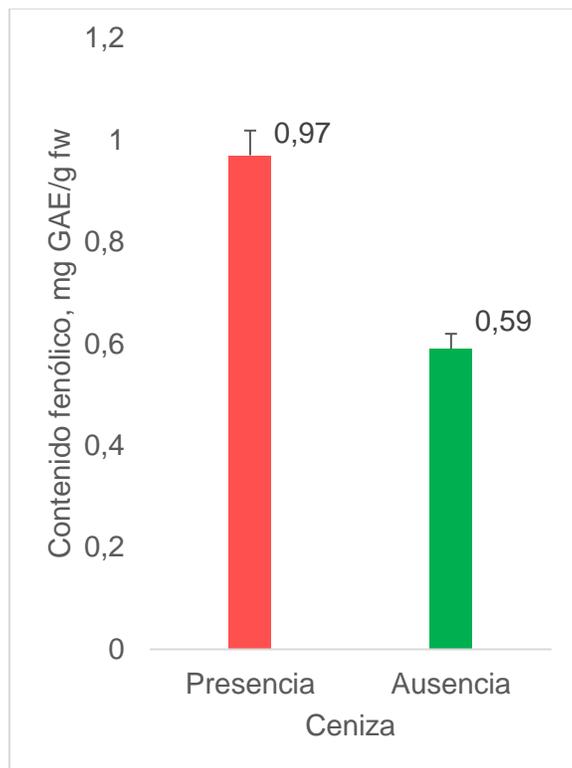
		TPC (mg GAE/g fw)				
		R1	R2	R3	Media \pm desviación estándar	Error estándar
Ceniza	Presencia	0.936	0.968	1.015	0.97 \pm 0.04	0.02
	Ausencia	0.596	0.584	0.595	0.59 \pm 0.01	3.9 x 10 ⁻³

Nota. Los datos están expresados en términos de concentraciones.

Los resultados del método de Folin Ciocalteu se reportan en la Tabla 14 en función de las medias \pm error estándar, mostrando valores similares en las concentraciones del contenido de fenoles siendo 0.97 \pm 0.04 mg GAE/g fw y 0.59 \pm 0.01 mg GAE/g fw en las muestras con presencia y ausencia de ceniza, respectivamente.

Figura 11

Comparación del contenido fenólico en Phaseolus vulgaris L. sanas y afectadas por la exposición de ceniza volcánica en estudio



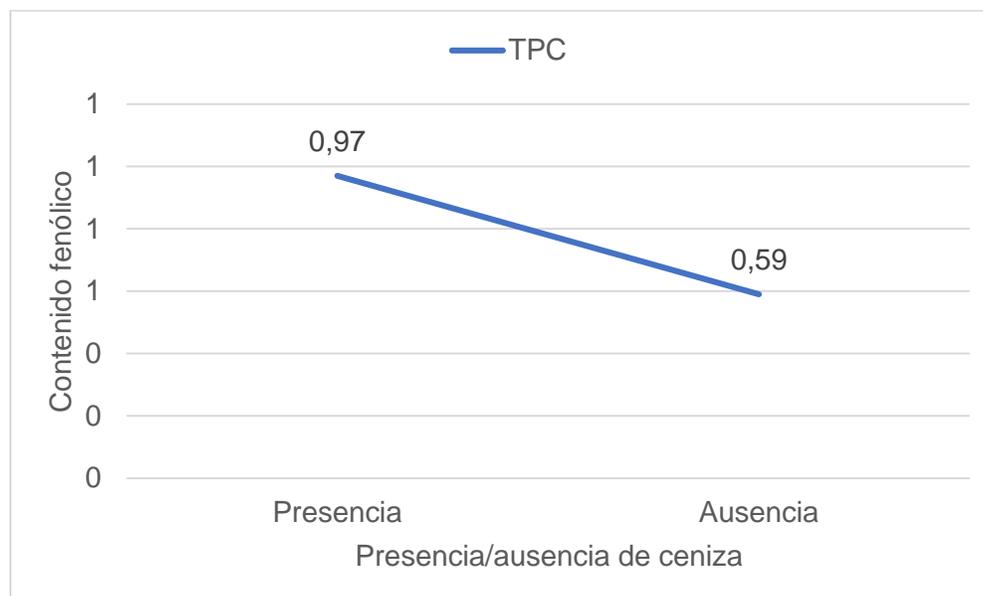
Nota. Los datos representan la media y el error estándar con un nivel de confianza del 95%.

Análisis estadístico

En la Figura 11 se muestran el análisis cuantitativo de la determinación del contenido fitoquímico en *Phaseolus* de dos muestras en estudio, evidenciando que no hay interacción de la respuesta experimental (concentración de contenidos fenólico en sanas y afectadas) ya que no cambia según la combinación de los niveles de los factores (métodos). Mediante el análisis de varianza (ANOVA) se verificó que sucede con los factores y los niveles además de su interacción, frente a una respuesta experimental donde se obtuvo que son estadísticamente significativas ($p < 0,001$, Infostat) ya que presentaron un menor valor de significancia $p = 0.05$, ver más a detalle en el Apéndice B.

Figura 12

Gráfica de interacción ceniza vs método



Nota. El contenido fenólico es mayor en plantas afectadas por ceniza volcánica.

El test de Duncan se explica en la Tabla 15, donde se determinó el contenido fenólico de granos de plantas de frejol, siendo estadísticamente diferentes, evidenciando a que la muestra afectada por la ceniza presenta una mayor concentración de compuestos fenólicos.

Tabla 15

Prueba de Duncan del contenido fenólico

Ceniza	Medias	n	E.E.	
Ausencia	0.59	3	0.02	A
Presencia	0.97	3	0.02	B

Nota. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Con respecto a la normalidad, los resultados si cumplen una distribución normal esto se verificó con el test de Shapiro-Wilk ya que presentó un $p_{valor} = 0.8009$ siendo mayor al valor de

confianza $p=0,05$ (Diagrama Q-Q plot, Histograma, ver Apéndice B), es decir, se cumplió los supuestos de normalidad. La homogeneidad de las varianzas se corroboró con el test de Levene donde se obtuvo un valor $p_{\text{valor}} > 0.05$.

Aplicando la prueba de Duncan se concluye que la media del contenido fenólico de la muestra con presencia de ceniza es mayor (0.97 mg GAE/g fw) que la media de la muestra sin ceniza (0.59 mg GAE/g fw).

Capítulo V: Discusión

El frejol es un cultivo de importancia económica, ecológica y nutricional, además de mejorar la calidad del suelo, por ser fijador de nitrógeno (Sacoto, 2022). Sin embargo, este cultivo se verá influido por el entorno en el que se encuentra, el cual va a decidir el tipo de estrés abiótico que puede imponerse a las plantas y la capacidad de las especies de cultivo para resistir ese tipo particular de estrés. Gull et al., (2019) indica que el estrés abiótico afecta negativamente el crecimiento, el desarrollo, el rendimiento y la calidad de las semillas de los cultivos y otras plantas. Donde la primera defensa de las plantas contra el estrés abiótico está en sus raíces. Las posibilidades de sobrevivir a condiciones estresantes serán altas si el suelo que sostiene la planta es saludable y biológicamente diverso. Donde las plantas pueden recuperarse de lesiones si el estrés es leve o de corta duración, dado que su efecto es temporal, mientras que cuando el estrés severo conduce a la muerte de las plantas al impedir la floración, la formación de semillas e inducir senescencia. Las plantas se encuentran con una serie de estreses abióticos que impactan en la productividad de los cultivos en todo el mundo. Estos estreses abióticos están interconectados entre sí y pueden ocurrir en forma de estrés osmótico, mal funcionamiento de la distribución de iones y homeostasis de las células vegetales.

Para ello las muestras estudiadas corresponden a plantas del género *Phaseolus* que se encuentran en estado de grano, las cuales fueron recolectadas en el sector de Alaques (para las sanas) y el barrio Chinchil de Robayos (para las afectadas), provincia de Cotopaxi, en la ciudad de Latacunga. Las muestras afectadas presentaron un mayor contenido fenólico y de actividad antioxidante en comparación con las muestras sanas.

Por otra parte, la ceniza volcánica tiene compuestos como son óxido de silicio (SiO_2), óxidos de aluminio y hierro, sales solubles, las cuales al verse en contacto con el suelo aumentan la acidez del mismo (Sánchez et al., 2018). Esta acidez del suelo afecta negativamente la producción de frejol a través de diferentes mecanismos, incluida la toxicidad del aluminio y la

inhibición de la disponibilidad de nutrientes esenciales (N, P, K) para la planta. De acuerdo a la investigación realizada por Cuenca-Tinoco et al., (2020) el frejol común es relativamente más sensible a la toxicidad de Al^{+3} en relación a otras especies, documentando reducciones de rendimiento de entre 30 – 60 %. Si bien es cierto que los cultivos son los más afectados, la planta posee mecanismos de defensa como el desarrollo de metabolitos secundarios para la protección de su sistema.

Además, la investigación de Saputra et al., (2022) demostró que el plazo para la recuperación del ecosistema por efecto de la caída de ceniza volcánica depende del espesor de la ceniza: décadas necesarias para las capas delgadas, siglos para las moderadas y milenios para las capas muy gruesa. Influyendo así en el entorno normal del cultivo, lo que provocará la producción de metabolitos secundarios que ayuden en la defensa de la planta. Investigaciones de Pulido & Morales (2021) concluyeron que el contenido de compuestos fenólicos varía según el cultivar y las condiciones de crecimiento, siendo los factores externos importantes en su desarrollo adecuado.

Los procesos de defensa de las plantas tienen como estrategia ayudar a su supervivencia, frente a estreses que pueden ser bióticos o abióticos, lo cual provoca que la planta produzca metabolitos secundarios. De acuerdo a Molina (2018) su origen se deriva de los metabolitos primarios, y dependiendo del nivel de estrés al que se encuentre sometido, pueden variar las concentraciones de metabolitos secundarios. Los compuestos bioactivos producidos dependen de condiciones ambientales para que genere un impacto adecuado en el desarrollo de las rutas metabólicas asociadas con su biosíntesis (Gull et al., 2019). Además, que las plantas en estado vegetativo, utilizan la fotosíntesis y la asimilación de carbono para su crecimiento, desarrollo y defensa, en la cual al encontrarse expuestas algún estrés puede alterar en el almacenamiento y síntesis de los metabolitos (Heredia-Rodríguez et al., 2017).

Los compuestos fenólicos son estructuras moleculares que incluyen uno o varios anillos fenólicos (Ruiz et al., 2018), varían en composición y cantidad entre diferentes especies, variedad, etapas de desarrollo, la parte de la planta considerada, condiciones de cultivo, así como en respuesta a factores ambientales (Magallanes, 2021). Estudios realizados por Cerón & Tamayo (2021) demostraron que los polifenoles poseen propiedades antioxidantes, a los cuales se les atribuye capacidades de neutralización de radicales libres, lo que ayuda a prevenir y combatir los procesos oxidativos, generando una respuesta de protección frente a factores externos. De esta manera se previene el daño oxidativo producida por las especies reactivas de oxígeno. El consumo de plantas con un alto contenido de fenoles prevendrá enfermedades degenerativas siendo beneficiosos para la salud (Ruiz et al., 2018). Los reportes obtenidos en este estudio indican baja capacidad antioxidante y contenido fenólico, ya que a un mayor valor de inhibición mayor cantidad de antioxidantes está presente en el extracto, Capistrán (2019) señala en su investigación que el frejol contiene contenido fenólico con alto contenido de antioxidantes, es decir que las actividades antioxidantes están determinadas por la composición del contenido fenólico en los granos de frejol.

Con base en los resultados, las muestras que mayor porcentaje de inhibición y contenido metabolito son aquellas expuestas a condiciones adversas como son la presencia de ceniza volcánica, lo que implica la inducción de compuestos fitoquímicos para su adaptación y supervivencia. En este sentido, los metabolitos secundarios de la planta *Phaseolus vulgaris* L. son utilizados como un mecanismo de defensa.

Del mismo modo Gull et al., (2019) indica que existe un cambio en el nivel de contenido fenólico en plantas antes y después de la cosecha debido a la exposición de factores como la luz, temperatura, potencial osmótico, nutrición, reguladores de crecimiento, inductores bióticos y abióticos, el estado de maduración de la fruta, entre otros. Además de su exposición frente a la ceniza volcánica.

Entre los metabolitos secundarios encontrados en plantas del género *Phaseolus* se encuentran flavonoides (quercetina y kaempferol), antocianinas, fenoles libres (ácido gálico, catequina, ácido vanílico entre otros), fenoles conjugados (ácido ferúlico, ácido sinápico, ácido p-hidroxibenzoico, ácido p-cumarico) y taninos. La fuente de compuestos bioactivos en la planta puede enfocarse en la realización de productos para la industria y la farmacéutica. Además, la caracterización fisicoquímica y su valoración tienen perspectivas potenciales para evolucionar como fuente de antioxidantes primarios, materia prima bioenergética, y como compuestos poliméricos (Bedoya & Maldonado, 2022).

La planta *Phaseolus vulgaris* L. con una mayor capacidad antioxidante es la muestra con exposición de ceniza volcánica con una media de las pruebas realizadas de 9.10 ± 0.08 $\mu\text{mol TRX/g fw}$, 8.28 ± 0.26 $\mu\text{mol TRX/g fw}$, y 0.97 ± 0.04 mg GAE/g fw para las pruebas DPPH, ABTS y Folin-Ciocalteu. Además, que para las pruebas DPPH y ABTS el porcentaje de inhibición mayor fue de 17.68% y 39.64% respectivamente. Los resultados se relacionan a los obtenidos en la investigación de Magallanes (2021) donde estudiaron la capacidad antioxidante y polifenoles totales de granos de frejol, obteniendo valores entre 6.90 ± 0.20 $\mu\text{mol TRX/g fw}$ a 9.14 ± 0.21 $\mu\text{mol TRX/g fw}$ por el método DPPH, mientras que para ABTS obtuvieron valores entre 10.44 ± 0.29 $\mu\text{mol TRX/g fw}$ a 13.64 ± 0.11 $\mu\text{mol TRX/g fw}$, además que para la concentración de contenido de fenoles obtuvieron valores entre 1.84 ± 0.03 mg GAE/g fw a 2.34 ± 0.03 mg GAE/g fw , adicionalmente estudios presentados por Rochín et al., (2018) indicaron valores de la actividad antioxidante entre 9.85 ± 0.04 $\mu\text{mol TRX/g fw}$ y 5.78 ± 0.06 $\mu\text{mol TRX/g fw}$ para las pruebas DPPH y ABTS respectivamente, en cambio para la concentración de polifenoles totales obtuvieron valores entre 0.46 ± 0.01 mg GAE/g fw a 0.75 ± 0.01 mg GAE/g fw , donde divergen estos resultados posiblemente por la influencia del método de extracción de principios activos, su reacción frente al estrés abiótico, como la maduración del grano de frejol.

La diferencia entre la prueba de DPPH y ABTS se debe a la naturaleza de la prueba. DPPH y ABTS son métodos económicos y sencillos, donde DPPH solo identifica los compuestos hidrofílicos, dejando de lado compuestos lipofílicos como las grasas insaturadas, terpenos que pueden ser identificados por ABTS, así como los compuestos hidrofílicos (Berrocal, 2018).

Con respecto al potencial reductor del ion Fe^{+2} , en las muestras afectadas por exposición de ceniza evidenciaron una mayor concentración en relación a las muestras sanas con un valor de $3.74 \pm 0,34 \mu\text{mol Fe}^{+2}/\text{g fw}$, siendo esta concentración menor a lo que reportó Garzón (2019) obteniendo $26.9 \pm 9,81 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g fw}$, mientras que la investigación de Pérez-Pérez et al., (2019) obtuvo $5.22 \pm 0.04 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g fw}$.

Conclusiones

Las muestras de la planta *Phaseolus vulgaris* L. afectadas por la ceniza volcánica, presentaron un mayor contenido fenólico y capacidad antioxidante, esto se debe a que la planta utiliza los metabolitos secundarios como mecanismo de defensa frente al estrés abiótico.

El muestreo aleatorio de frutos maduros frescos de *Phaseolus vulgaris* L. sanas y afectadas permitió realizar un análisis fitoquímico para la detección de antioxidantes y polifenoles.

Se determinó la concentración del contenido de fenoles en muestras de la planta de *Phaseolus vulgaris* L. sanas y afectadas, siendo $0.59 \pm 0.01 \text{ mg GAE}/\text{g fw}$ y $0.97 \pm 0.04 \text{ mg GAE}/\text{g fw}$ para fenoles mediante el ensayo de Folin-Ciocalteu.

Se obtuvo una mayor capacidad antioxidante en los extractos de *Phaseolus vulgaris* L. afectadas por la ceniza volcánica con una concentración de $9.10 \pm 0.08 \mu\text{mol TRX}/\text{g fw}$, $8.28 \pm 0.26 \mu\text{mol TRX}/\text{g fw}$, $3.74 \pm 0.34 \mu\text{mol Fe}^{+2}/\text{g fw}$ para las pruebas DPPH, ABTS y FRAP respectivamente.

Hubo diferencias significativas en muestras de plantas de *Phaseolus vulgaris* L. afectadas en relación con las muestras sanas, por lo que se deduce que la muestra afectada tuvo un tiempo adecuado de exposición de ceniza.

Recomendaciones

Considerar la variabilidad de metabolitos secundarios que puede existir entre los diferentes estados de desarrollo de la planta como en los diferentes órganos de la planta.

Analizar los compuestos fitoquímicos y la actividad antioxidantes en diferentes temporadas de recolección y diferentes condiciones de extracción.

Determinar las interferencias que se pueden presentar al momento de realizar los métodos, para reducir errores en la medición y obtener valores óptimos para la investigación.

Capítulo VI: Bibliografía

- Abderrahim, F., Estrella, S., Susin, C., Arribas, S., Gonzáles, M., & Condezo-Hoyos, L. (2011). J Med Food. *Cereal Science*, 51(3), 313-318.
- Abdulrahman, B., Bala, M., & Bello, O. (2021). Bioactive Compounds of Black Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). En H. P. Murthy, *Bioactive Compounds in Underutilized Vegetables and Legumes pp* (págs. 623-641). Springer. doi:https://doi.org/10.1007/978-3-030-57415-4_38
- Acevedo, E. (2020). Video reportaje: función del periodismo preventivo ante una erupción del Cotopaxi en Sangolquí. (*Tesis de licenciatura*). Universidad Politécnica Salesiana, Quito. Obtenido de <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/19142>
- Agudo, L. (2010). Técnicas para la determinación de compuestos antioxidante en alimentos. *Revista de la Educación en Ectremadura*, 8. Obtenido de https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/38160425/l_a_medina-libre.pdf?1436641627=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DTecnicas_para_la_determinacion_de_compue.pdf&Expires=1703076314&Signature=CVORKqTs8yXHMzjMuc5EaMoo2as2npuDbWA7ZTZHs3xPOYITcIE
- Albán, W. (2019). Programa para el manejo de eventos adversos producto de erupciones volcánicas en el aeropuerto internacional cotopaxi, cantón Latacunga, provincia de Cotopaxi. (*Tesis de pregrado*). Escuela superior politécnica de Chimborazo, Riobamba. Obtenido de <http://dspace.esepoch.edu.ec/handle/123456789/13737>
- Alonso, E. (2017). New analytical approaches to assess the phenolic composition of guava (*Psidium guajava* L.) leaves with anti-diabetic related risk factors bioactivity. (*Tesis de*

- doctorado*). Universidad de Granada, Granada. Obtenido de <https://investigacion.ubu.es/documentos/61860c7975e77e5ab488229d>
- Alvarez, L. (2023). Anpalisis del efecto de la caída de cenizas volcánicas en las telecomunicaciones. (*Tesis de pregrado*). Universidad politécnica salesiana, Cuenca. Obtenido de <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/26403>
- Armando, J., Rosas, P., Ramírez, J., & Ulloa, B. (2011). El frijol (*Phaseolus vulgaris*): su importancia nutricional y como fuente de fitoquímicos. *Revista fuente*(8), 1-5. Obtenido de <http://dspace.uan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/582/EI%20frijol%20%28P%20haseolus%20vulgaris%29%2c%20su%20importancia%20nutricional.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Arnalds, O. (2013). Chapter Six - The Influence of Volcanic Tephra (Ash) on Ecosystems. *El sevier*, 121, 331-380. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-407685-3.00006-2>
- Avegno, L. (2023). Efecto del Bioestimulante Natural Growth en la producción de frejol cuarenteño (*Phaseolus vulgaris* L.) en la zona de Montalvo, Lors Ríos. (*Tesis de pregrado*). Universidad Técnica de Babahoyo, Babahoyo. Obtenido de <http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/14145>
- Barragán, M., Aro, J., Huamaní, V., & Cartagena, R. (2018). Characteristics of anthocyanins and bioactive compounds of mio- mio (*Coriaria ruscifolia* L.). *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 20(4), 419-428. doi:<http://dx.doi.org/10.18271/ria.2018.419>
- Bedoya, R., & Maldonado, M. (2022). Características nutricionales y antioxidantes de la especie de frijol petaco (*Phaseolus coccineus*). *SciELO*, 49(1), 34-42. doi:<http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182022000100034>

- Benítez-Estrada, A., Villanueva-Sánchez, J., González-Rosendo, G., Alcántar-Rodríguez, V., Puga-Díaz, R., & Quintero-Gutiérrez, A. (2020). Determinación de la capacidad antioxidante total de alimentos y plasma humano por fotoquimioluminiscencia: Correlación con ensayos fluorométricos (ORAC) y espectrofotométricos (FRAP). *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 23, 1-9. doi:<https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.244>
- Bernard, B., Battaglia, J., Proaño, A., Hidalgo, S., Vásconez, F., Hernandez, S., & Ruiz, M. (24 de Octubre de 2016). Relationship between volcanic ash fallouts and seismic tremor: quantitative assessment of the 2015 eruptive period at Cotopaxi volcano, Ecuador. *Springer*, 78(80), 11. doi:<https://doi.org/10.1007/s00445-016-1077-5>
- Berrocal, S. (2018). Contenido de fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante de *Solanum nitidum* R. & P. "ñuñunga", Ayacucho 2018. (Tesis de pregrado). Universidad nacional de san cristóbal de Huamanga, Ayacucho. Obtenido de <https://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/4233>
- Bodego, N. (2023). Comportamiento agronómico del frejol (*Phaseolus vulgaris* L.) con dos abonos orgánicos en la época seca. (Tesis de pregrado). Universidad Técnica de cotopaxi, La maná. Obtenido de <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/10092/1/UTC-PIM-000619.pdf>
- Bohorquez, R. (2016). Determinación de actividad antioxidante de extractos de hojas de *Diplostephium phylloides* (Kunth) Wedd. (Tesis de pregrado). Universidad de ciencias aplicadas y ambientales U.D.C.A, Bogotá. Obtenido de <https://repository.udca.edu.co/handle/11158/591>

- Bonifaz, J. (2020). Principales cultivares de judía verde (*Phaseolus vulgaris* L.), que se siembran en el Ecuador. (*Tesis de pregrado*). Universidad Técnica de Babahoyo, Babahoyo. Obtenido de <http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/8436>
- Borja, R. (2021). Revisión bibliográfica de especies vegetales del Ecuador que son fuentes naturales de alcaloides y sus posibles usos. (*Tesis de pregrado*). Universidad Técnica de Ambato, Ambato. Obtenido de <https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/33654>
- Cadena, E. (2019). Tendencias estacionales del sedimento de ceniza proveniente de erupciones vulcanianas del volcán Tungurahua, periodo 2015-2019. (*Tesis de pregrado*). Universidad San Francisco de Quito, Quito. Obtenido de <http://repositorio.usfq.edu.ec/handle/23000/8988>
- Campos, L., & Nicola, M. (2022). Efecto de tres fertilizantes orgánicos en el comportamiento agronómico del cultivo del fréjol (*Phaseolus vulgaris* L.) en el Recinto Calope de Garrido Cantón Pangua Provincia de Cotopaxi. (*Tesis de pregrado*). Universidad Técnica de Cotopaxi, La maná. Obtenido de <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/8967>
- Campues, A. (2023). Efecto de micorrizas arbusculares en el cultivo de fréjol (*Phaseolus vulgaris* L.), Ibarra, Imbabura. (*Tesis de pregrado*). Universidad Técnica del norte, Ibarra. Obtenido de <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/14517>
- Capistrán, A. (2019). Identificación y cuantificación de compuestos fenólicos en poblaciones nativas de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). (*Tesis de maestría*). Universidad Veracruzana, Veracruz. Obtenido de <https://cdigital.uv.mx/bitstream/handle/1944/50794/CapistranCarabarinArelly.pdf?sequence=1>

- Carmona-Hernández, J., Taborda-Ocampo, G., & González-Correa, C. (2021). Folin-Ciocalteu Reaction Alternatives for Higher Polyphenol Quantitation in Colombian Passion Fruits. *International Journal of Food Science*, 2021, 1-10. doi:<https://doi.org/10.1155/2021/8871301>
- Castillo, J., & Zambrano, C. (2020). "Estudio del Contenido de Aflatoxinas en Distintas Variedades de Fréjol (*Phaseolus vulgaris* L.), Considerando las Características de Manejo en la Cadena Agroalimentaria para Determinar Riesgo Alimentario". (Tesis de pregrado). Universidad de las Fuerzas Armadas "ESPE", Santo Domingo. Obtenido de <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/22286/1/T-ESPESD-003059.pdf>
- Cerón, C., & Tamayo, K. (2021). Desarrollo de un pan sin gluten, a base de una mezcla de harinas de haba (*Vicia faba*), frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y maíz capio *Zea mays*, aplicando goma xantan y carboximetilcelulosa (CMC) como mejoradores de las características físicas. (Tesis de pregrado). Unilasallista Corporación Universitaria, Caldas-Antioquia. Obtenido de <http://repository.unilasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/3266/1/1124861178-1020435439.pdf>
- Chalán, Á. (2019). Diagnóstico de la diversidad nativa de fréjol (*Phaseolus vulgaris* L.) y maíz (*Zea mays* L.) en tres comunidades del cantón saraguro, provincia de Loja. (Tesis de pregrado). Escuela superior politécnica de chimborazo, Riobamba. Obtenido de <http://dspace.espech.edu.ec/handle/123456789/10740>
- Chávez, M., & Vásquez-Guzmán, J. (2021). Efecto de la aplicación de tres dosis de *Bacillus subtilis* en tres variedades de fréjol arbustivo. *SIEMBRA*, 8(2), 1.9. doi:<https://doi.org/10.29166/siembra.v8i2.2657>

- Claros, P. (2021). Evaluación de la capacidad antioxidante total y contenido de polifenoles totales del *Phaseolus vulgaris* "Frijol". (Tesis de pregrado). Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión, Huacho. Obtenido de <https://repositorio.unjfsc.edu.pe/handle/20.500.14067/5297>
- Conforme, N. (2021). "Evaluación de la severidad de antracnosis (*Colletotrichum lindemuthianum*) en el cultivo de frejol (*Phaseolus vulgaris* L.) var. cuarentón bajo el efecto de la aplicación de silicio.". (Tesis de pregrado). Universidad Técnica estatal de Quevedo, Quevedo. Obtenido de <https://repositorio.uteq.edu.ec/handle/43000/6515>
- Contreras, A. (2023). Desarrollo fenológico del frejol panamito (*Phaseolus vulgaris*) a base de abono orgánico en Ecuador. (Tesis de pregrado). Universidad Técnica de Babahoyo, Babahoyo. Obtenido de <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/14820/E-UTB-FACIAG-%20AGROP-000063.pdf?sequence=5&isAllowed=y>
- Cortez, J., Faicán, M., Pirovani, M., & Piagentini, A. (2018). Determination of polyphenols in fruits added with vitamin C: methodology to improve the specificity of the Folin-Ciocalteu test. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 19(2), 1-12. Obtenido de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81357541002>
- Cuenca-Tinoco, A., Castro-Delgado, N., Cargua-Chávez, J., Cedeño-García, G., & Cedeño-Zambrano, J. (2020). Efectivity of amendments on growth and yield of common beans in an acidic andisol soil. *Temas agrarios*, 25(1), 54-65. doi:<https://doi.org/10.21897/rta.v25i1.2236>
- Díaz, M. (2021). EVALUACIÓN AGRONÓMICA DE FRÉJOL (*Phaseolus vulgaris* L.) MIXTURIADO BAJO UN SISTEMA AGROECOLÓGICO EN LA GRANJA EXPERIMENTAL, LA PRADERA. (Tesis de pregrado). Universidad Técnica del Norte, Antonio Ante. Obtenido de <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/11526>

- Dobronski, J., & Curay, J. (2019). Evaluación agronómica de tres variedades de Fréjol arbustivo (*Phaseolus vulgaris* L.) bajo las condiciones climáticas de la comunidad de Rumichaca del cantón Pelileo. (*Tesis de pregrado*). Universidad Técnica de Ambato, Cevallos. Obtenido de <https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/30037>
- Dorantes-Salazar, E. L., Báez-González, J., Gastelúm-Martínez, É., Morales-Landa, J., & García-Marquez, E. (2023). Determinación de actividad antioxidante en alimentos funcionales. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 8(1), 643-649. doi:<https://doi.org/10.29105/idcyta.v8i1.84>
- Duchitanga, E. (2019). Determinación del contenido de polifenoles del polvo y extracto del follaje de anís silvestre (*Piper auritum*) y su efecto en la alimentación de cerdos en posdestete. (*Tesis de pregrado*). (Universidad estatal amazónica, Puyo. Obtenido de <https://repositorio.uea.edu.ec/handle/123456789/363>
- Estrada, E. (2023). Hacia un modelo de evaluación de sistemas de alerta temprana para actividad volcánica: algunas reflexiones conceptuales. *Revista Multidisciplinar*, 7(1), 10576-10617. doi:https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v7i1.5240
- Flores, A. (2023). Evaluación de plagas en frejol (*Phaseolus vulgaris* L.) variedad mixturiado bajo un sistema de manejo agroecológico en la granja experimental la pradera, chaltura. (*Tesis de pregrado*). Unversidad Técnica del norte, Ibarra. Obtenido de <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/14003/2/03%20AGP%20358%20TRABAJO%20GRADO.pdf>
- Gallegos-Flores, P., Bañuelos-Valenzuela, R., Delgadillo-Ruiz, L., Meza-López, C., & Echavarría-Cháirez, F. (2019). Antibacterial activity of five terpenoid compounds: Carvacrol, limonenem linalool, α -terpinene and thymol. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 22, 241-248. Obtenido de <https://www.researchgate.net/profile/Francisco->

Chairez/publication/334263317_ACTIVIDAD_ANTIBACTERIANA_DE_CINCO_COMPU
 ESTOS_TERPENOIDES_CARVACROL_LIMONENO_LINALLOOL_a-
 TERPINENO_Y_TIMOL_ANTIBACTERIAL_ACTIVITY_OF_FIVE_TERPENOID_COMP
 OUNDS_CARVACROL_LIMONENE_LIN

Ganesan, K., & Xu, B. (2017). Polyphenol-Rich Dry Common Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and Their Health Benefits. *MDPI*, 18(11). doi:<https://doi.org/10.3390/ijms18112331>

García, D. (2016). Caracterización de algunos metabolitos primarios y secundarios en dos variedades comerciales de lúcuma (*Pouteria lucuma*). (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima. Obtenido de <https://hdl.handle.net/20.500.12996/2565>

García, Y. (2016). Compuestos fenólicos y actividad antioxidante en testa y grano de 54 poblaciones nativas de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). (Tesis de maestría). Universidad Veracruzana, Veracruz. Obtenido de <https://www.uv.mx/mca/files/2018/01/L.-N.-Yatzil-Denih-Garcia-Diaz.pdf>

Garzón, A. (2019). Polifenoles, aminoácidos y actividad antioxidante en ejote y flor de poblaciones nativas de *Phaseolus vulgaris* L. y *P. coccineus* L. (Tesis de maestría). Universidad Veracruzana, Veracruz. Obtenido de <http://148.226.24.32:8080/bitstream/handle/1944/50803/GarzonGarciaAlma.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Grajales, E. (2010). Estudio de la digestibilidad del almidon y capacidad antioxidante de una tortilla elaborada con una mezcla de maíz de alta calidad proteínica (*Zea mays* L.) y frijol negro (*Phaseolus vulgaris* L.). (Tesis de pregrado). Instituto politécnico nacional, Yautepec. Obtenido de <https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/9941/181.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
 y

- Gull, A., Ahmad Lone, A., & UI Islam Wani, N. (2019). Biotic and Abiotic Stresses in Plants. En A. D. Oliveira, *Abiotic and Biotic Stress in Plants* (págs. 3-8). London: Intechopen Limited. doi:DOI: 10.5772/intechopen.85832
- Gupta, S., & Pandey, S. (2019). ACC Deaminase Producing Bacteria With Multifarious Plant Growth Promoting Traits Alleviates Salinity Stress in French Bean (*Phaseolus vulgaris*) Plants. *Frontiers in Microbiology*, 10(1506), 1-17. doi:<https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01506>
- Gutierrez, Y., Cruz-Martín, M., Sánchez-García, C., Leiva-Mora, M., Acosta-Suárez, M., Roque, B., . . . Alvarado-Capó, Y. (2016). Contenido de fenoles totales en la testa de las semillas de tres cultivares de *Phaseolus vulgaris* L. *Bioteología Vegetal*, 16(2), 125-128. Obtenido de <https://biblat.unam.mx/es/revista/bioteologia-vegetal/articulo/contenido-de-fenoles-totales-en-la-testa-de-las-semillas-de-tres-cultivares-de-phaseolus-vulgaris-l>
- Hayat, I., Ahmad, A., Masud, T., Ahmed, A., & Bashir, S. (2014). Nutritional and Health Perspectives of Beans (*Phaseolus vulgaris* L.): An Overview. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54(5), 580-592. doi:<https://doi.org/10.1080/10408398.2011.596639>
- Heredia, J. (2020). "Efectos de la aplicación de ceniza de madera en la morfología y rendimiento del cultivo de fréjol (*Phaseolus vulgaris* L.) en la parroquia Patricia Pilar del cantón Buena Fe". (*Tesis de pregrado*). Universidad Técnica estatal de Quevedo, Quevedo. Obtenido de <https://repositorio.uteq.edu.ec/handle/43000/6063>
- Heredia-Rodríguez, L., Garza-Juárez, A. d., Niño-Medina, G., & Vázquez-Rodríguez, J. (2017). DETERMINACIÓN DE FENOLES TOTALES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL FRIJOL TEPARI (*Phaseolus acutifolius*) CULTIVADO EN NUEVO LEÓN, MÉXICO. (*Tesis de pregrado*). Universidad Autónoma de Nuevo León, Nuevo León. Obtenido de <https://www.researchgate.net/profile/Jesus-Vazquez->

Rodriguez/publication/328771485_DETERMINACION_DE_FENOLES_TOTALES_Y_CAPACIDAD_ANTIOXIDANTE_DEL_FRIJOL_TEPARI_Phaseolus_acutifolius_CULTIVADO_EN_NUEVO_LEON_MEXICO/links/5be1cddb299bf1124fbf180d/DETERMINACION

Hernández-Alvarado, J., Zaragosa-Bastida, A., López-Rodríguez, G., Peláez-Acero, A., & Olmedo-Juárez, A. R.-P. (2018). Antibacterial and antihelmintic activity of plant secondary metabolites: approach in Veterinary Medicine. *Abanico veterinario*, 8(1), 14-27. doi:<https://doi.org/10.21929/abavet2018.81.1>

Huaccho, C. (2016). Capacidad antioxidante, compuestos fenólicos, carotenoides y antocianinas de 84 cultivares de Mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón). (Tesis de maestría). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima. Obtenido de <https://hdl.handle.net/20.500.12996/2844>

Hudz, N., Yezerska, O., Shanaida, M., Horčinová, V., & Wieczorek, P. (2019). Application of the Folin-Ciocalteu method to the evaluation of *Salvia sclarea* extracts. *PHARMACIA*, 66(4), 209-215. doi:<https://doi.org/10.3897/pharmacia.66.e38976>

Huerta, E. (2020). "Efecto de diferentes coberturas orgánicas en la mejora de la fertilidad del suelo y rendimiento del cultivo de frejol (*Phaseolus vulgaris* L.) en marcará, Carhuaz, Ancash - 2018". (Tesis de pregrado). Universidad nacional "Santiago Antúnez de Mayolo", Huaraz. Obtenido de <http://repositorio.unasam.edu.pe/handle/UNASAM/5153>

Huet, C. (2017). Métodos Analíticos para la Determinación de Antioxidantes en Muestras Biológicas. (Tesis de pregrado). Universidad Complutense, Madrid. Obtenido de <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/CRISTINA%20HUET%20BRE%C3%91A.pdf>

Instituto Geofísico EPN. (2023). *igepn*. Obtenido de <https://igepn.edu.ec/cotopaxi>

- Kumar, K., & Kumar, A. (2023). A case study of fly ash utilization for enhancement of growth and yield of cowpea (*Vigna unguiculata* L.) to sustainable agriculture. *Springer link*, 13, 7571-7584. doi:<https://doi.org/10.1007/s13399-021-01459-0>
- Lamuela-Raventós, R. (2018). Foli-Ciocalteu method for the measurement of total phenolic content and antioxidant capacity. En R. Apak, E. Capanoglu, & F. Shahidi, *Measurement of Antioxidant Activity & Capacity: Recent Trends and Applications* (págs. 107-115). Pondicherry: Wiley. doi:<https://doi.org/10.1002/9781119135388.ch6>
- Lara, M. (2019). PLAN DE NEGOCIO PARA LA PRODUCCIÓN Y COMERCIALIZACIÓN DEL DULCE TRADICIONAL DE FRÉJOL Y GUAYABA EN LA PARROQUIA DE CALDERÓN DURANTE EL PERIODO FISCAL 2019. (*Titulación para la obtención de la tecnología en administración de empresa*). Instituto superior tecnológico Japón, Quito. Obtenido de <https://dspace.itsjapon.edu.ec/jspui/handle/123456789/2432>
- Llumigustin, L., & Pallango, M. (2022). Utilización de la ceniza volcánica, con diferentes métodos de activación puzolánica, para la estabilización de suelos con resistencia a compresión menor a 80 KN/m². (*Tesis de pregrado*). Escuela Politécnica Nacional, Quito. Obtenido de <http://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/23407>
- López-Froilán, R., Hernández-Ledesma, B., Cámara, M., & Pérez-Rodríguez, M. (2018). Evaluation of the Antioxidant Potential of Mixed Fruit-Based Beverages: a New Insight on the Folin-Ciocalteu Method. *Food Analytical Methods*, 11, 2897-2906. doi:<https://doi.org/10.1007/s12161-018-1259-1>
- Lustre, H. (2022). Los superpoderes de las plantas: los metabolitos secundarios en su adaptación y defensa. *Revista Digital Universitaria*, 23(2), 1-8. doi:<http://doi.org/10.22201/cuaieed.16076079e.2022.23.2.10>

- Magallanes, K. (2021). Caracterización físicoquímica, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de tres variedades de Frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) de cinco localidades, Lima - Ica. (*Tesis de pregrado*). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima. Obtenido de <https://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/20.500.12996/4671>
- Martínez, J. (2013). Efecto del procesamiento en el contenido de compuestos fenólicos y las propiedades antioxidantes de diferentes variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) MEXICO. (*Tesis de pregrado*). Universidad autónoma del Estado de México, Totula. Obtenido de <http://ri.uaemex.mx/oca/bitstream/20.500.11799/14379/1/407988.pdf>
- Martínez, Y. (2021). Efecto de los fungicidas Celest-top, Trichoderma y TMTD en la protección de semillas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). (*Tesis de maestria*). Universidad de matanzas, Matanzas. Obtenido de <https://rein.umcc.cu/bitstream/handle/123456789/1741/MSc21%20Yaidalys.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Mazón-Suástegui, J., Ojeda-Silvera, C., García-Bernal, M., Batista-Sánchez, D., & Abasolo-Pachecho, F. (2020). The Homeopathy increases tolerance to stress by NaCl in plants of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) variety Quivican. *Terra Latinoamericana*, 38(1), 37-51. doi:<https://doi.org/10.28940/terra.v38i1.584>
- Mendoza, M. (2018). Inducción de metabolitos de interés nutracéutico en germinados de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y el efecto de su consumo en un modelo de dislipidemia. (*Tesis de pregrado*). Universidad autónoma de Querétaro facultad de química, Santiago de Querétaro. Obtenido de <https://ri-ng.uaq.mx/handle/123456789/1176>
- Mex-Álvares, R., Garma-Quen, P., Yanez-Nava, D., Guillen-Morales, M., & Novelo-Pérez, M. (2021). Caracterización morfométrica de *Phaseolus vulgaris* en Campeche, México. *CENIC*, 52(1), 32-38. Obtenido de <https://www.redalyc.org/journal/1812/181268228004/>

- Mihai, R., Espinoza-Caiza, I., Melo-Heras, E., Cubi-Insuaste, N., Pinto-Valdiviezo, E., & Catana, R. (2023). Does the Mineral Composition of Volcanic Ashes Have a Beneficial or Detrimental Impact on the Soils and Cultivated Crops of Ecuador? *MDPI*, 11(10), 13. doi:<https://doi.org/10.3390/toxics11100846>
- Molina, A. (2018). La influencia del estrés abiótico en la síntesis de metabolitos secundarios de plantas medicinales. (*Tesis de pregrado*). Universidad de La Laguna, La Laguna. Obtenido de <https://riull.ull.es/xmlui/bitstream/handle/915/10257/La%20influencia%20del%20estres%20abiotico%20en%20la%20sintesis%20de%20metabolitos%20secundarios%20de%20plantas%20medicinales.pdf?sequence=1>
- Monar, J. (2023). Manejo de Mancha angular (*Phaeoisariopsis griseola*) en el cultivo de fréjol (*Phaseolus vulgaris* L.). (*Tesis de pregrado*). Universidad Técnica de Babahoyo, Babahoyo. Obtenido de <http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/14926>
- Montalvo, D. (2021). EVALUACIÓN DE LA DIVERSIDAD AGRÍCOLA INTRAESPECÍFICA DE MAÍZ (*Zea mays* L.) Y FRÉJOL (*Phaseolus vulgaris* L.) PRESENTE EN LAS COMUNIDADES INDÍGENAS DE COTACACHI, IMBABURA. (*Tesis de pregrado*). Universidad Técnica del Norte, Ibarra. Obtenido de <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/10900>
- Morales, A., & Genesis, T. (2023). Efecto de la aplicación de biol de forma edáfica y foliar con dos concentraciones en el cultivo de fréjol (*Phaseolus vulgaris* L.). (*Tesis de pregrado*). Universidad Técnica de Cotopaxi, La Maná. Obtenido de <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/10096>
- Moreno, M. (2021). Nuevas técnicas electroquímicas para la determinación de la capacidad antioxidante en extractos alimentarios basadas en el método CUPRAC. (*Tesis de*

- doctorado*). Universidad de Córdoba, Córdoba. Obtenido de <https://helvia.uco.es/handle/10396/21901>
- Muñoz, A., Alvarado-Ortíz, C., Ramos, F., Castañeda, B., Barnett, E., Cárdenas, L., . . . Encina, C. (2013). Study of Polyphenols, Tannins and Chemical Methods to determine Antioxidant Activity in Seeds of Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.). *Horizonte Médico*, 13(1), 11-18. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/3716/371637128003.pdf>
- Muñoz-Velázquez, E., Rivas-Díaz, K., Loarca-Piña, G., Mendoza-Díaz, S., Reynoso-Camacho, R., & Ramos-Gómez, M. (2012). Comparison of phenolic content, antioxidant capacity and anti-inflammatory activity of commercial herbal infusions. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 3(3), 481-495. Obtenido de https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-09342012000300006&script=sci_arttext
- Murube, E., Beleggia, R., Pacetti, D., Nartea, A., Frascarelli, G., Lanzavecchia, G., . . . Natale, G. (2021). Characterization of Nutritional Quality Traits of a Common Bean Germplasm Collection MDPI. *MDPI*, 10(7), 1-26. doi:<https://doi.org/10.3390/foods10071572>
- Naspud, M. (2018). Determinación de la capacidad antioxidante de los extractos alcohólicos del fruto de mora (*Rubus glaucus* Benth) obtenidos con tres pretratamientos térmicos. (*Tesis de pregrado*). Universidad politécnica salesiana, Cuenca. Obtenido de <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/16411/1/UPS-CT007983.pdf>
- Ombra, M., d'Acierno, A., Nazzaro, F., Riccardi, R., Spigno, P., Zaccardelli, M., . . . Fratianni, F. (2016). Actividades antioxidantes, antiinflamatorias y moduladoras microbianas de los nutracéuticos y los alimentos funcionales. *Hindawi*, 12. Obtenido de <http://dx.doi.org/10.1155/2016/1398298>
- Orjuela, A. (2015). Determinación de actividad antioxidante de extractos y fracciones de hojas de *Chromolaena perglabra* (B. L. Robinson) R.M. King & H. Robinson. (*Tesis de pregrado*).

- Universidad de ciencias aplicadas y ambientales U.D.C.A., Bogotá. Obtenido de <https://repository.udca.edu.co/handle/11158/408>
- Ormaza, J. (2018). Respuesta de tres variedades de frejol (*Phaseolus vulgaris* L.) a la aplicación de bioestimulante. (Tesis de pregrado). Universidad de Guayaquil, Guayaquil. Obtenido de <https://repositorio.ug.edu.ec/server/api/core/bitstreams/23aadf90-470b-4192-abb8-730b9a3a50b0/content>
- Palacios, L. (2018). Determinación de la capacidad antioxidante de bayas y frutos del bosque. (Tesis de pregrado). Universidad de Jaén, Andalucía. Obtenido de <https://hdl.handle.net/10953.1/6515>
- Paucar, J., Ramos, A., & Tigasi, P. (2023). Análisis de la vulnerabilidad socioeconómica en el ámbito agropecuario por la caída de ceniza del volcán Cotopaxi en el sector el pedregal, parroquia Machachi, cantón Mejía, período mayo-septiembre 2023. (Tesis de pregrado). Universidad Estatal de Bolívar, Guaranda. Obtenido de <https://dspace.ueb.edu.ec/handle/123456789/6509>
- Pérez-Perez, L., Del Toro, C., Sánchez, E., González, R., Reyes, A., Borboa, J., . . . Flores-Cordova, M. (2019). Bioaccessibility of antioxidant compounds from different bean varieties (*Phaseolus vulgaris* L.) in México, through an in vitro gastrointestinal system. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*, 22(1), 117-125. Obtenido de <https://www.scielo.org.mx/pdf/biotecnia/v22n1/1665-1456-biotecnia-22-01-117.pdf>
- Pico, J., Pismag, R., Laudouze, M., & Martinez, M. (2020). Systematic evaluation of the Folin–Ciocalteu and Fast Blue BB reactions during the analysis of total phenolics in legumes, nuts and plant seeds. *Food & Function*, 1(11), 1-13. doi:DOI: 10.1039/d0fo01857k
- Pincay, W. (2023). Efecto de la aplicación de biol de forma edáfica y foliar con dos concentraciones en el cultivo de fréjol (*Phaseolus vulgaris* L.). (Tesis de pregrado).

Universidad Técnica de Cotopaxi, La Maná. Obtenido de <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/10096>

Platzer, M., Kiese, S., Herfellner, T., Schweiggert-Weisz, U., & Eisner, P. (2021). How Does the Phenol Structure Influence the Results of the Folin-Ciocalteu Assay? *MDPI*, *10*(5), 1-13. doi:<https://doi.org/10.3390/antiox10050811>

Proaño, J., Santander, A., & Espinoza, P. (2023). Lahares del volcán Cotopaxi, riesgos en la actividad turística para el cantón Rumiñahui. *Revista Conectividad*, *4*(1), 13-24. doi:<https://doi.org/10.37431/conectividad.v4i1.46>

Pulido, E., & Morales, M. (2021). Efecto de cocción y digestión invitro en el contenido de compuestos bioactivos de frejoles (*Phaseolus vulgaris*). (Tesis de pregrado). Universidad nacional "Hermilio Valdizán", Huánuco. Obtenido de <https://repositorio.unheval.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13080/6434/TAI00179P95.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Quijije, J. (2016). RESPUESTA A LA APLICACIÓN DE FERTILIZANTES FOLIARES EN LA PRODUCTIVIDAD DEL CULTIVO DEL FREJOL BLANCO (*Phaseolus vulgaris* L.) INIAP 463. (Tesis de pregrado). Universidad de Guayaquil, Guayaquil. Obtenido de <https://repositorio.ug.edu.ec/server/api/core/bitstreams/48f48e39-cb3f-4bab-ab06-a8dc4daf658f/content>

Quiroz-Sodi, M., Mendoza-Díaz, S., Hernández-Sandoval, L., & Carrillo-Ángeles, I. (2018). Characterization of the secondary metabolites in the seeds of nine native bean varieties (*Phaseolus vulgaris* and *P. coccineus*) from Querétaro, Mexico. *Botanical Sciences*, *96*(4), 650-661. doi:10.17129/botsci.1930

Ramírez, M. (2023). Determinación de la capacidad antioxidante presente en las semillas de *Cordia dentata* por el método ABTS y DPPH. (Tesis de pregrado). Universidad El Bosque,

- Bogotá. Obtenido de <https://repositorio.unbosque.edu.co/bitstream/handle/20.500.12495/10599/Determinacion%20de%20la%20capacidad%20antioxidante%20presente%20en%20las%20semillas%20de%20Cordia%20dentata%20por%20el%20metodo%20ABTS%20y%20DPPH?sequence=1&isAllowed=y>
- Reyes-Silva, J., Salazar-Campos, A., & Ríos-Cortes, H. (2020). Metabolitos secundarios de las plantas (angiospermas) y algunos usos interesantes. *Uno Sapiens Boletín Científico de la Escuela Preparatoria No. 1*, 2(4), 16-18. Obtenido de <https://repository.uaeh.edu.mx/revistas/index.php/prepa1/article/view/5122/6591>
- Rioja, A., Vizalque, B., Aliaga-Rossel, E., Tejeda, L., Book, O., Mollinedo, P., & Peñarrieta, J. (2018). Determinación de la capacidad antioxidante total, fenoles totales, y la actividad enzimática en una bebida no láctea en base a granos de *Chenopodium Quinoa*. *REVISTA BOLIVIANA DE QUÍMICA*, 35(5), 168-176. Obtenido de http://www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S0250-54602018000500006&script=sci_arttext
- Rochín, J., Ramírez, K., Rangel-Peraza, J., & Aguayo-Rojas, J. (2018). Incremento del valor nutrimental, actividad antioxidante y potencial inhibitorio de α -glucosida en brownies a base de leguminosas cocidas. *Revista de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición*, 68(2), 164-174. Obtenido de http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_alan/article/view/20261/144814486578
- Rodríguez, R., Campa, A., Suárez, B., & Ferreira, J. (2021). Phenolic Content and Antioxidant Activity in Seeds of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *MDPI*, 10(4), 1-12. doi:<https://doi.org/10.3390/foods10040864>
- Ruiz, S., Venegas, E., Valdiviezo, J., & Plasencia, J. (2018). Content of total phenols and *in vitro* antioxidant capacity of the juice of "pur pur" *Passiflora tripartita* var. *mollissima*

(Passifloraceae). *Arnaldoa*, 25(3), 1003-1014.
doi:<http://doi.org/10.22497/arnaldoa.253.25312>

Sacoto, K. (2022). Evaluación de la fertilización química en la producción del frejol (*Phaseolus vulgaris*), Milagro-Guayas. (Tesis de pregrado). Universidad agraria del Ecuador, Milagro. Obtenido de <https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/SACOTO%20MORENO%20KILVRYN%20ROBERTO.pdf>

Samal, I., Kumar, T., Nikhil, M., Kumar, P., Murmu, S., Kumar, A., . . . Gurú, P. (2023). Underutilized legumes: nutrient status and advanced breeding approaches for qualitative and quantitative enhancement. *Frontiers in Nutrition*, 10, 1-15.
doi:<https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1110750>

Sánchez, E., Vizcaino, G., Mejía, F., & Cipriani, I. (2018). Análisis mineralógico y multielemental de la ceniza volcánica, producto de la erupción del Cotopaxi en 2015, por difracción de rayos X (XRD) y espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) y sus posibles aplicaciones e impactos. *Dialnet*, 6(1), 9-23. Obtenido de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7113386>

Saputra, D., Sari, R., Hairiah, K., Widiyanto, Suprayogo, D., & Noordwijk, M. (2022). Recovery after volcanic ash deposition: vegetation effects on soil organic carbon, soil structure and infiltration rates. *Plant Soil*, 474, 163-179. doi:<https://doi.org/10.1007/s11104-022-05322-7>

Sosa, F., Parada, R., Sánchez-Cabrera, M., Marguet, E., & Vallejo, M. (2023). Antioxidant capacity of lactic acid bacteria isolated from marine fish and invertebrates of the province of Chubut, Patagonia, Argentina. *Revista ciencias marinas y costeras*, 15(1), 99-112.
doi:<http://dx.doi.org/10.15359/revmar.15-1.6>

- Tabango, E. (2021). Caracterización de variedades nativas de fréjol (*Phaseolus vulgaris* L.), procedentes del banco nacional de germoplasma del INIAP, en el cantón cotacachi provincia de Imbabura. (*Tesis de pregrado*). Universidad Técnica del norte, Ibarra. Obtenido de <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/11168>
- Tayupanda, G., & Tumbaco, F. (2022). Respuesta del cultivo de fréjol (*Phaseolus vulgaris* L.) a la aplicación de bioestimulantes foliares y un activador fisiológico. (*Tesis de pregrado*). Universidad Técnica de Cotopaxi, La Mana. Obtenido de <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/8591>
- Terán, V. (2022). Evaluación del carácter antioxidante y de compuestos fitoquímicos implicados en la defensa de plantas del género Musa (*Cavendish Valery*) frente a la enfermedad del Moko causada por *Ralstonia Solanacearum* raza 2. (*Tesis de pregrado*). Universidad de las Fuerzas Armadas, Sangolqui. Obtenido de <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/33889/1/T-ESPE-052630.pdf>
- Thirumurugan, D., Cholarajan, A., Raja, S., & Vijayakumar, R. (2018). An Introductory Chapter: Secondary Metabolites. En R. Vijayakumar, & S. Raja, *Secondary Metabolites - Sources and Applications* (págs. 1-21). IntechOpen. doi:10.5772/intechopen.71955
- Ulcuango, R. (2018). EVALUACIÓN MORFOAGRONÓMICA DE VARIEDADES LOCALES DE FRÉJOL ARBUSTIVO (*Phaseolus vulgaris* L.) DE LA PARROQUIA CHALTURA, EN LA GRANJA “LA PRADERA”, CANTÓN ANTONIO ANTE. (*Tesis de pregrado*). Universidad Técnica del Norte, Antonio Ante. Obtenido de <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/8122>
- Vargas, B. (2020). Estabilización de un suelo arcilloso con ceniza volcánica para el mejoramiento de subrasante en la progresiva km 5+100 al 6+100 del tramo Asirumi - Rosaspata Huancané. (*Tesis de pregrado*). Universidad peruana unión, Juliaca. Obtenido de

https://repositorio.upeu.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12840/3487/Brayan_Tesis_Licenciatura_2020.pdf?sequence=4&isAllowed=y

Verdecia, D. M., Herrera-Herrera, R. d., Torres, E., Sánchez, A., Hernández-Montiel, L., Herrera, R., . . . López, S. (2021). Metabolitos primarios y secundarios de seis especies de árboles, arbustos y leguminosas herbáceas. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 5(1), 77-93. Obtenido de <http://scielo.sld.cu/pdf/cjas/v55n1/2079-3480-cjas-55-01-77.pdf>

Villacrés, E., Quelal, M., Álvarez, J., & Peralta, E. (2023). Fréjol torta o pallar (*Phaseolus lunatus* L.) en Ecuador: calidad nutricional y potenciales beneficios para la salud humana. En J. Martínez-Catillo, & E. Peralta, *El fréjol torta o pallar Phaseolus lunatus L. en Ecuador* (págs. 65-79). Quito: Libro Científico-Académico. Obtenido de https://www.researchgate.net/profile/Maria-Quelal/publication/374466209_El_frejol_torta_o_pallar_Phaseolus_lunatus_L_en_Ecuador/links/651ecba9b0df2f20a213a87a/El-frejol-torta-o-pallar-Phaseolus-lunatus-L-en-Ecuador.pdf

Villarroel, P. (2017). Evaluación de la actividad antioxidante de extractos metanólicos de *Quinchamalium chilense* y *Adesmia boronioides*. (Tesis de pregrado). Universidad de Chile, Santiago. Obtenido de <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/170148>

Yandún, A. (2022). EFECTO DE *Bacillus subtilis* COHN. EN EL CONTROL DE ENFERMEDADES FUNGOSAS FOLIARES EN EL CULTIVO DE FRÉJOL (*Phaseolus vulgaris* L.), VARIEDAD INIAP 484 CENTENARIO, IBARRA, IMBABURA. (Tesis de pregrado). Universidad Técnica del Norte, Ibarra. Obtenido de <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/12511>

Zhang, Q., Zheng, G., Wang, Q., Zhu, J., Zhou, Z., Zhou, W., . . . Du, J.-d. (2022). Molecular mechanisms of flavonoid accumulation in germinating common bean (*Phaseolus vulgaris*)

under salt stress. *Frontiers in Nutrition*, 9, 1-15.

doi:<https://doi.org/10.3389/fnut.2022.928805>

Capítulo VII: Apéndices