



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA



Escola Tècnica Superior  
d'Enginyeria Agronòmica i del Medi Natural

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica  
y del Medio Natural

Estudio de la vaina de haba (*Vicia faba* L.) en polvo como  
una fuente prometedora de componentes bioactivos  
potencialmente funcionales.

Trabajo Fin de Grado

Grado en Ciencia y Tecnología de los Alimentos

AUTOR/A: Milenova Zehireva, Yanitza

Tutor/a: García Martínez, Eva María

Director/a Experimental: BARRIAL LUJAN, ABEL ISAIAS

CURSO ACADÉMICO: 2022/2023

ESTUDIO DE LA VAINA DE HABA (VICIA FABIA L.) EN POLVO COMO UNA FUENTE PROMETEDORA DE COMPONENTES BIOACTIVOS POTENCIALMENTE FUNCIONALES.

Autora: Yanitza Milenova Zehireva

Tutora: Eva María García Martínez

Director/a Experimental: Abel Isaias Barrial Lujan

Valencia, 3 de julio de 2023

Curso Académico: 2022-2023

## RESUMEN

La vaina del haba (*Vicia faba* L.) es el subproducto de la transformación industrial de las habas para el consumo humano y animal. Se estima que la producción global de habas se sitúa en torno a los 4 millones de toneladas. Sin embargo, al cosechar esta legumbre hace que se generen aproximadamente 2,8 millones de toneladas de subproducto, lo cual representa aproximadamente el 70% de la producción total. Éste genera un problema debido a su acumulación excesiva y al coste elevado de su eliminación. Dado que muchos subproductos vegetales contienen altos niveles de nutrientes y otros compuestos bioactivos, resulta interesante investigar su idoneidad para su uso como ingredientes en alimentación humana y así fomentar la sostenibilidad del sistema agroalimentario y la economía circular.

En este sentido, en este TFG se propone estudiar el contenido en compuestos bioactivos de la vaina del haba liofilizada en polvo, su actividad antioxidante y algunas de sus propiedades funcionales *in vitro* vinculadas con el metabolismo de los hidratos de carbono. Concretamente se caracterizó el contenido en vitamina C, clorofilas, carotenoides totales, fenoles totales, así como la actividad antioxidante (ensayos DPPH y FRAP) y el índice glucémico estimado (IGE). Además se extrajeron y cuantificaron los compuestos fenólicos libres y aquellos ligados a las paredes celulares. Los resultados mostraron que el subproducto liofilizado de vaina de haba en polvo es un residuo con una buena composición en compuestos bioactivos con propiedades antioxidantes. Destacó su contenido en vitamina C (356,69 mg/100 g bs), sobre todo en forma de ácido dehidroascórbico, clorofilas (79 mg/100 g bs), carotenoides (50 mg/100 g bs) y polifenoles (5191 mg/100 g bs). Respecto a la actividad antioxidante, se observó que la fracción hidrofílica presentó una actividad mucho mayor que la fracción lipofílica. Además, la fracción de fenoles libres fue la que mayor actividad antioxidante aportó frente a la fracción de los compuestos fenólicos ligados. Asimismo, su bajo IGE (21,7) le confiere una cierta capacidad para la regulación de la glucosa postprandial y lo hace especialmente indicado para personas que padecen obesidad y diabetes.

**PALABRAS CLAVE:** subproducto, haba, vitamina C, clorofila, fracciones fenólicas, actividad antioxidante.

STUDY OF FABA BEAN (VICIA FABIA L.) POD POWDER AS A PROMISING SOURCE OF POTENTIALLY FUNCTIONAL BIOACTIVE COMPONENTS.

ABSTRACT

The fava bean pod (*Vicia faba* L.) is the by-product of the industrial processing of fava beans for human and animal consumption. The global production of fava beans is estimated to be around 4 million tons. However, when harvesting this legume, approximately 2.8 million tons of by-product are generated, which represents approximately 70% of the total production. This creates a problem due to its excessive accumulation and the high cost of its disposal. Given that many vegetable by-products contain high levels of nutrients and other bioactive compounds, it is interesting to investigate their suitability for use as ingredients in human food and thus promote the sustainability of the agri-food system and the circular economy.

In this sense, in this TFG it is proposed to study the bioactive compound content of the powdered freeze-dried fava bean pod, its antioxidant activity and some of its *in vitro* functional properties linked to the metabolism of carbohydrates. Specifically, the content of vitamin C, chlorophylls, total carotenoids, total phenols, as well as antioxidant activity (DPPH and FRAP assays) and the estimated glycemic index (IGE) were characterized. In addition, free phenolic compounds and those bound to cell walls were extracted and quantified. The results showed that the lyophilized powdered bean pod by-product is a residue with a good composition of bioactive compounds with antioxidant properties. Its vitamin C content (356.69 mg/100 g bs) stood out, especially in the form of dehydroascorbic acid, chlorophylls (79 mg/100 g bs), carotenoids (50 mg/100 g bs) and polyphenols (5191 mg/ 100 g bs). Regarding the antioxidant activity, it was observed that the hydrophilic fraction presented a much higher activity than the lipophilic fraction. In addition, the fraction of free phenols was the one that provided the greatest antioxidant activity compared to the bound phenolic compounds. Likewise, its low IGE (21.7) gives it a certain ability to regulate postprandial glucose and makes it especially suitable for people with obesity and diabetes.

KEYWORDS: byproduct, fava bean, vitamin C, chlorophyll, phenolic fractions, antioxidant activity.

## ESTUDI DE LA BEINA DE FAVA (VICIA FABA L.) EN POLS COM A UNA FONT PROMETEDORA DE COMPONENTS BIOACTIUS POTENCIALMENT FUNCIONALS.

### RESUM

La beina de la fava (*Vicia faba* L.) és el subproducte de la transformació industrial de les faves per al consum humà i animal. S'estima la producció global de faves se situa al voltant dels 4 milions de tones. No obstant això, en collir aquest llegum fa que es generin aproximadament 2,8 milions de tones de subproducte, cosa que representa aproximadament el 70% de la producció total. Aquest genera un problema a causa de la seva acumulació excessiva i del cost elevat de la seva eliminació. Atès que molts subproductes vegetals contenen alts nivells de nutrients i altres compostos bioactius, resulta interessant investigar la seva idoneïtat per utilitzar-los com a ingredients en alimentació humana i així fomentar la sostenibilitat del sistema agroalimentari i l'economia circular.

En aquest sentit, en aquest TFG es proposa estudiar el contingut en compostos bioactius de la beina de la fava liofilitzada en pols, la seva activitat antioxidant i algunes de les seves propietats funcionals in vitro vinculades amb el metabolisme dels hidrats de carboni. Concretament es va caracteritzar el contingut en vitamina C, clorofil·les, carotenoides totals, fenols totals, així com l'activitat antioxidant (assaigs DPPH i FRAP) i l'índex glucèmic estimat (IGE). A més es van extreure i quantificar els compostos fenòlics lliures i aquells lligats a les sembles cel·lulars. Els resultats van mostrar que el subproducte liofilitzat de beina de fava en pols és un residu amb una bona composició en compostos bioactius amb propietats antioxidants. En va destacar el contingut en vitamina C (356,69 mg/100 g bs), sobretot en forma d'àcid dehidroascòrbic, clorofil·les (79 mg/100 g bs), carotenoides (50 mg/100 g bs) i polifenols (5191 mg/ 100 g bs). Pel que fa a l'activitat antioxidant, es va observar que la fracció hidrofílica va presentar una activitat molt més gran que la fracció lipofílica. A més, la fracció de fenols lliures va ser la que més activitat antioxidant va aportar davant dels compostos fenòlics lligats. Així mateix, el seu baix IGE (21,7) li confereix una certa capacitat per a la regulació de la glucosa postprandial i ho fa especialment indicat per a persones que pateixen obesitat i diabetes.

PARAULES CLAU: subproducte, fava, vitamina C, clorofil·la, fraccions fenòliques, activitat antioxidant.

## **Agradecimientos**

En primer lugar, me gustaría expresar mi agradecimiento a mi tutora Eva García, por aceptar trabajar conmigo y por su valiosa ayuda durante este proceso tan importante para obtener mi grado universitario.

También quiero agradecer a mi equipo de trabajo, formado por Abel, siendo el director experimental, el cual nos ha enseñado todos los métodos y procedimientos a realizar y nos ha hecho ver que la investigación es un trabajo que requiere paciencia. A Julián y Francesca por ayudarme en mi parte del trabajo y apoyarme.

Además, quiero agradecer a mi familia y a mi pareja, que siempre han estado ahí para apoyarme en los momentos difíciles y han sido un pilar fundamental para seguir adelante.

# ÍNDICE DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN .....	1
2. OBJETIVO .....	4
3. MATERIALES Y MÉTODOS .....	4
3.1. MATERIAS PRIMAS.....	4
3.2. METODOLOGÍA .....	4
3.2.1. OBTENCIÓN DE LA VAINA DE HABA LIOFILIZADA EN POLVO.....	4
3.3. DETERMINACIONES ANALÍTICAS .....	5
3.3.1. Humedad.....	5
3.3.2. Clorofilas .....	5
3.3.3. Compuestos Fenólicos .....	6
3.3.3.1. Fenoles totales .....	6
3.3.3.2. Fracciones de compuestos fenólicos libres y ligados.....	7
3.3.4. Carotenoides totales.....	7
3.3.5. Vitamina C: Ácido ascórbico y dehidroascórbico .....	8
3.3.6. Actividad Antioxidante .....	8
3.3.6.1. FRAP .....	8
3.3.6.2. DPPH .....	9
3.3.7. Índice glucémico estimado (IGE) .....	10
4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	10
5. RESULTADOS .....	10
5.1. EVALUACIÓN DE LA HUMEDAD Y DE LOS COMPUESTOS BIOACTIVOS.....	10
5.2. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE .....	14
5.3. EVALUACIÓN DEL ÍNDICE GLUCÉMICO ESTIMADO .....	16
6. CONCLUSIÓN.....	18
7. BIBLIOGRAFÍA .....	18

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Porcentajes de los desperdicios alimentarios. Fuente: Zamora (2018).....	1
<b>Figura 2.</b> Pasos para seguir para crear una Economía Circular. Fuente: Parlamento Europeo (2015).....	2
<b>Figura 3.</b> Vicia Faba L.....	2
<b>Figura 4.</b> Obtención de la muestra de vaina de haba en polvo .....	5
<b>Figura 5.</b> Mecanismo de la reacción. Fuente: Claudia Delgadillo Puga.....	8

<b>Figura 6.</b> . Reacción de decoloración por el DPPH. Fuente: WAIVAM-E.....	9
<b>Figura 7.</b> Contenido de Vitamina C de la vaina de haba fresca (VHF) y de la vaina de haba liofilizada en polvo (VHP) en su forma reducida (ácido ascórbico, AA) y en su forma oxidada (ácido dehidroascórbico, DHHA), expresado en mg/100g de muestra en base seca. Las letras a-b indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) el contenido en AA entre las muestras y las letras A-B indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) el contenido en DHHA entre las muestras.....	14
<b>Figura 8.</b> Actividad antioxidante de las muestras de la vaina de haba fresca (VHF) y de la vaina de haba .....	15
<b>Figura 9.</b> Curva de la respuesta glucémica de las muestras de vaina de haba fresca (VHF) y de la vaina de haba liofilizada (VHP), frente al control de glucosa (CG). .....	17

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Clorofilas totales (CLT), fenoles totales (FT), carotenoides totales (CT)de las muestras de vaina de haba frescas (VHF) y liofilizadas (VHP). Resultados expresados en mg bioactivo/100 g muestra (base seca).....	11
<b>Tabla 2.</b> Contenido total de fenoles (FT) en las fracciones fenólicas obtenidas de VHF y VHP expresados en mg ácido gálico/100g (base seca). .....	12
<b>Tabla 3.</b> Actividad antioxidante medida por los métodos FRAP y DPPH, de las fracciones fenólicas obtenidas a partir de la vaina de haba fresca (VHF) y la vaina de haba en polvo (VHP). Los resultados se expresan en mmol de Trolox/100g en base seca. ....	16

## 1. INTRODUCCIÓN

La industria alimentaria produce grandes cantidades de subproductos que, a menudo, terminan siendo un problema debido a su acumulación, generando un gran coste para su eliminación. Un subproducto (Arozarena, 2015) se puede definir como aquel producto que se obtiene durante un proceso específico y que no es el producto principal deseado. No obstante, se podría coger esos subproductos y analizar su valor funcional para ver si es significativo y poder reutilizarlos para la producción de ingredientes alimentarios.

De acuerdo con los datos de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2019), se estima que alrededor del 14 % de la producción alimentaria global, con un valor anual de 400 000 millones de dólares, se pierde después de la cosecha y antes de llegar a los puntos de venta. Las pérdidas varían significativamente dependiendo de la cadena alimentaria, llegando incluso al 45% en el caso de frutas y hortalizas, tal y como se observa en la **Figura 1**.



**Figura 1.** Porcentajes de los desperdicios alimentarios. Fuente: Zamora (2018).

También según la FAO, tienen previstas medidas para la reducción de las pérdidas y el desperdicio de alimentos. En los últimos años, se han presentado propuestas para fomentar la economía circular como una solución altamente sostenible. Con el objetivo de reducir el impacto ambiental y mejorar la eficiencia en el uso de los recursos, la economía circular tiene un gran potencial para transformar la forma en que producimos y consumimos. A medida que avanzamos hacia un futuro más sostenible, la economía circular se perfila como una alternativa clave para lograr un modelo económico más justo, resiliente y responsable.

Esta práctica, tal y como se muestra en la **Figura 2**, ha sido ampliamente utilizada en los últimos años, ya que no solo contribuye a reducir el desperdicio de alimentos, sino que también agrega valor a dichos subproductos.





**Figura 2.** Pasos para seguir para crear una Economía Circular. Fuente: Parlamento Europeo (2015).

En España, es destacable la reciente iniciativa de futuro sostenible conocida como “España Circular 2030” y la estrategia denominada “Más alimento, menos desperdicio” (ODS12). Ambas tienen como objetivo principal la reducción de las pérdidas y el desperdicio alimentario, así como la valorización de los alimentos destacados, al mismo tiempo que promueven técnicas de consumo responsable y eficiente (Zamora, 2018). Los subproductos de las leguminosas pueden ser una prometedora fuente de compuestos nutritivos y funcionales que pueden ser reutilizados en la industria alimentaria para obtener ingredientes que puedan ser añadidos en la formulación de alimentos, obteniendo así productos de un mayor valor añadido (Delgado-Andrade et al., 2016).

Abu-Reidah et al. (2017) menciona que la producción global de habas se sitúa en torno a los 4 millones de toneladas. Sin embargo, al cosechar esta legumbre hace que se genere aproximadamente 2,8 millones de toneladas de subproducto, lo cual representa aproximadamente el 70% de la producción total. Por tanto, estas vainas que suelen desecharse y no consumirse, representan una gran cantidad de subproducto que ocasiona problemas en su gestión y eliminación. No obstante, estas vainas son muy interesantes debido a su potencial para ser reutilizadas y aprovechadas de manera beneficiosa.

El haba (*Vicia faba* L.), **Figura 3**, es una planta leguminosa cultivada perteneciente a la familia Fabaceae, que se caracteriza por tener múltiples usos. Es considerado el cuarto cultivo de legumbres más importante a nivel mundial (Tamrat et al., 2019). Existen entre 130 y 240 especies de *Vicia* en total y se cultivan más de 40 debido a su importancia económica (El-Bok et al., 2014).



**Figura 3.** *Vicia Faba* L.

En cuanto a su composición nutricional, la vaina del haba presenta un contenido considerable de proteínas, alrededor del 14% (p/p), mientras que su contenido en grasa es bajo, aproximadamente del 1% (p/p). También contienen cantidades apreciables de micronutrientes y compuestos bioactivos que pueden brindar beneficios para la salud, como vitamina C, vitamina K, folato, hierro y magnesio. Estos compuestos desempeñan un papel importante en numerosas funciones del cuerpo, como el sistema inmunológico, la coagulación sanguínea, la formación de glóbulos rojos y la salud ósea. Por otra parte, Mateos-Aparicio et al. (2012), demostró que el subproducto derivado de las habas es una fuente abundante de fibra dietética, especialmente de fibra dietética insoluble. No obstante, el contenido de fibra dietética soluble no debe ser subestimado. También se han identificado más de 100 compuestos fenólicos en la vaina del haba (Krenz et al., 2023). Entre estos compuestos se encuentran los flavonoides, como la quercetina y el kaempferol, que poseen propiedades antioxidantes y antiinflamatorias (González-Gallego, et al., 2007). Se ha demostrado que la vaina de *Vicia faba* es una fuente rica en compuestos fenólicos con actividad antioxidante (Adu-Reidah, 2017), los cuales ayudan a reducir el estrés oxidativo en células *in vivo*. Sin embargo, es importante tener en cuenta que los polifenoles más abundantes en los alimentos no siempre tienen la mayor actividad en el organismo. Esto se debe a que su absorción es baja, se metabolizan rápidamente y se excretan con facilidad, lo cual está directamente relacionado con su baja actividad intrínseca (Quiñones et al., 2012).

También se han encontrado en la vaina del haba algunos carotenoides, como la luteína y la zeaxantina, que actúan como antioxidantes. Estos compuestos protegen los tejidos oculares y pueden reducir el riesgo de enfermedades oculares relacionadas con la edad, como la degeneración macular (Eisenhauer et al., 2017).

En conjunto, estos compuestos antioxidantes presentes en este subproducto ayudan a neutralizar los radicales libres, reducir el estrés oxidativo y proteger al cuerpo contra el daño celular. Incorporar la vaina del haba en la dieta puede ser una forma efectiva de aprovechar estas propiedades antioxidantes y promover una salud óptima. También tiene una amplia gama de actividades biológicas como efectos antibacterianos, antialérgicos, antiinflamatorios y cardioprotectores (Fendri et al., 2022). En cuanto a su efecto antibacteriano, Mejri et al. (2018), demostraron que las bacterias Gram positivas son más sensibles que las bacterias Gram negativas a los extractos de vainas de habas. El autor anteriormente mencionado, comparó sus resultados con otro estudio realizado en la India, donde se destacó la eficacia de estos extractos para inhibir el crecimiento de *S. aureus* y *E. coli*.

En diversos estudios, como por ejemplo el de Loizzo et al. (2020), se han investigado las posibles propiedades nutraceuticas que pueden tener la vaina de haba para combatir el síndrome metabólico, relacionado con un mayor riesgo de sufrir un infarto de miocardio o enfermedad arterial coronaria.

Sin embargo, hay que tener en cuenta que este subproducto presenta un elevado contenido en agua que lo hace altamente perecedero, por lo que se hace necesario algún tipo de procesamiento que permita estabilizarlo, pero minimizando la pérdida de compuestos nutritivos y bioactivos, como es el caso de la liofilización (Barbosa-Cánovas et al., 2005). El producto obtenido tras la liofilización de la vaina del haba, podría triturarse y el polvo obtenido podría incorporarse en la formulación de otros alimentos. Los productos en polvo ya gozan de gran popularidad en la industria alimentaria para ser utilizados como aditivo, aliño, etc. (Cuq et al., 2013).

Con este enfoque, en este trabajo orientado en estudiar el desarrollo de un ingrediente funcional a partir de subproductos alimentarios, se contribuye a varios objetivos de Desarrollo Sostenibles (ODS). Nuestro enfoque promueve una economía circular y un consumo responsable (ODS12) y contribuye a mejorar la salud y a combatir la malnutrición, iniciativas que están directamente relacionadas con los ODS2 y ODS3.

## **2. OBJETIVO**

El objetivo del presente trabajo es caracterizar el subproducto del procesado del haba liofilizado en polvo en los compuestos bioactivos mayoritarios y en algunas de sus propiedades funcionales, como su actividad antioxidante y el índice glucémico estimado, relacionado con el metabolismo de los hidratos de carbono, para valorar su potencial como ingrediente en la industria alimentaria. También se caracterizará en los mismos compuestos y propiedades las vainas de haba antes de liofilizar.

## **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **3.1. MATERIAS PRIMAS**

En este trabajo se utilizó vaina de haba (*Vicia faba L.*) de la variedad Criolla, proporcionada por un comercio del mercado de Algirós (Valencia). Las muestras se seleccionaron en función de poseer similar grado de madurez y sin daños mecánicos. Posteriormente se desgranaron y se cortaron las partes extremas. Una parte de este lote de muestra fue destinado para caracterizar la muestra fresca que se utilizará como control (VHF) y la otra parte se continuó con el procesado para obtener el producto liofilizado en polvo, tal y como se describe a continuación.

### **3.2. METODOLOGÍA**

#### **3.2.1. OBTENCIÓN DE LA VAINA DE HABA LIOFILIZADA EN POLVO**

Las muestras de vainas de haba seleccionadas fueron sometidas a un escaldado, durante 60 segundos y a una temperatura de  $100 \pm 2^\circ\text{C}$ , con el fin de desactivar las enzimas (Soltero Sánchez, 2018). Se realizaron escaldados por lotes, donde cada lote tenía un peso aproximado de 350g para garantizar una homogeneidad en el proceso de escaldado.

Tras el escaldado se trituró la muestra para obtener un puré (Robot coupe, Blixer, 700 W, 3000 rpm). Este puré fue distribuido de manera uniforme en bandejas de aluminio con un espesor de 0,5 cm y con un peso aproximado de 239 g por bandeja. Fueron congeladas primero durante 24h

a  $-23^{\circ}\text{C}$  y posteriormente a  $-48^{\circ}\text{C}$  durante 24h más. Una vez pasado ese tiempo, las muestras se colocaron en el liofilizador (Telstar Lioalfa-6) a 0,050 mPa, temperatura en el condensador de  $-50^{\circ}\text{C}$ , con las bandejas a  $50^{\circ}\text{C}$ , durante 6 horas. Las muestras liofilizadas, se trituraron en tandas de 40 g hasta conseguir un polvo homogéneo (Thermomix®, Vorwerk, España) a 2000 rpm durante 20s. El producto obtenido se colocó en un tamiz de  $200\ \mu\text{m}$  (CISA 200/50, Barcelona, España), utilizando una tamizadora (RP 200 N CISA, Barcelona, España) durante 5 min. Una vez realizado todo esto, se obtuvo la muestra liofilizada en polvo con un tamaño de partícula de  $200\ \mu\text{m}$  (VHP). Este proceso se resume en la siguiente figura (**Figura 4**).



*Figura 4. Obtención de la muestra de vaina de haba en polvo .*

### 3.3. DETERMINACIONES ANALÍTICAS

Los experimentos fueron realizados como mínimo por triplicado. Se calculó la media y la desviación estándar. Con fines comparativos, los resultados se expresaron en base seca (bs).

#### 3.3.1. Humedad

El contenido de agua ( $x_w$ ) de las muestras VHF se determinó mediante el método gravimétrico de secado en estufa (J.P. Selecta, Barcelona, España) (AOAC, 1990).

Para medir la  $x_w$  de las muestras liofilizadas VHP se empleó el método de valoración volumétrica de Karl Fischer, utilizando un equipo de valoración automática (Mettler Toledo, Compact Coulometric Titrator C10S, Worthington, USA). Los resultados, en ambos procedimientos, fueron expresados en g de agua/100 g de muestra.

#### 3.3.2. Clorofilas

La determinación de las clorofilas totales (CLT) se llevó a cabo con el método clásico espectrofotométrico de Hansmann (1973). Consistió en pesar 0,5 g de VHF ó 0,15 g de VHP y mezclar con 4 mL de acetona. Seguidamente se agitó a temperatura ambiente durante 30 min (oscuridad), se centrifugó a 10000rpm durante 10 min a 4°C y se recogieron los sobrenadantes. Finalmente se midió la absorbancia a dos longitudes de onda: 646 nm y 663nm (Espectrofotómetro UV-visible Thermo Electron Corporation, Estados Unidos). El contenido de clorofila se calculó mediante las ecuaciones 1-4 y los resultados se presentan como mg/100 g bs.

$$C_a(\text{clorofila } a) = 12.7A_{663nm} - 2.69A_{646nm} \quad (\text{ec.1})$$

$$C_b(\text{clorofila } b) = 22.9A_{663nm} - 4.68A_{646nm} \quad (\text{ec.2})$$

$$C_T = C_a + C_b \quad (\text{ec.3})$$

$$\text{Contenido de clorofila (mg/100 g)} = C_T * \frac{V}{P} * 100 \quad (\text{ec.4})$$

Siendo:

A: absorbancia

CT: Contenido total de clorofila (mg/L)

V: volumen de acetona (L)

P: peso muestra (g)

### 3.3.3. Compuestos Fenólicos

Los compuestos fenólicos se extrajeron y cuantificaron haciendo uso de un método convencional (3.3.3.1) y de otro método que permite extraer, por separado, las fracciones de compuestos fenólicos libres y ligados a las paredes celulares (3.3.3.2), tal y como se describe a continuación.

#### 3.3.3.1. Fenoles totales

Los compuestos fenólicos totales (FT) se extrajeron con 9 mL de una disolución de MeOH:H<sub>2</sub>O (70:30) y 1 g de muestra para la VHF y 0,15g para VHP, según trabajos anteriores (Silva-Espinoza et al., 2021). La mezcla se mantuvo durante 30 minutos en agitación magnética, tapadas y en oscuridad, a 23°C. Después las muestras se traspasaron a tubos de centrifuga y se centrifugaron (GYROZEN 123GR) a 4 °C, 1000 rpm, durante 10 minutos y se recogió el sobrenadante.

La cuantificación se realizó mediante el Ensayo de Folin-Ciocalteu propuesto por García-Martínez et al. (2023). Se añadieron en un aforado de 25 mL 250 µL de extracto, 15 mL de agua bidestilada y 1,25 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu. Se dejó reposar durante 8 min a temperatura ambiente y en oscuridad. Posteriormente, se le añadieron 3,75 mL de una disolución de carbonato de sodio al 7,5% (p/v) y se enrasó a 25 mL con agua bidestilada. Se mantuvo en oscuridad y a temperatura ambiente durante 2 horas. Para la preparación del blanco

se le añadieron las mismas cantidades y disoluciones, excepto el extracto, en este caso se le añadió 250  $\mu$ L de agua bidestilada. Finalmente se midió la absorbancia de las muestras a 765 nm (Espectrofotómetro UV-visible Thermo Electron Corporation, Estados Unidos) . Los resultados se expresaron en mg ácido gálico (AG)/ 100 g bs.

### **3.3.3.2. Fracciones de compuestos fenólicos libres y ligados**

El principal objetivo de las extracciones fenólicas fue para ver como varía la actividad antioxidante de los diferentes compuestos fenólicos. Se utilizó el método de Alu'datt et al. (2017) y modificaciones de Camacho et al. (2022). Las extracciones fenólicas que se realizaron constaban de 4 etapas continuas. Las primeras dos etapas consistían en extraer los fenoles libres, mientras que las dos siguientes se enfocaban en extraer los fenoles ligados.

En la primera etapa, se tomaron aproximadamente 2,5 g de VHF y 1g de VHP y se añadieron 25 mL de metanol (MeOH) a una temperatura de 30°C durante 1 hora y con agitación constante (600rpm). Después, se filtró la mezcla a vacío utilizando papel Whatman para obtener el filtrado, que se denominó F30. Estos filtrados se conservaron en frascos herméticos a -40°C hasta su análisis. Los residuos resultantes de la primera filtración se utilizaron en la segunda etapa de extracción. Se les añadieron 25 mL de MeOH a una temperatura de 60°C durante 1 hora y con agitación (600rpm). Luego, se realizó una nueva filtración para obtener el filtrado, al cual se le denominó F60. Se conservaron en frascos herméticos a -40°C hasta su análisis. A continuación, se procedió a la extracción de los fenoles ligados. Se tomó el residuo que quedó de la segunda filtración y se le añadieron 25 mL de hidróxido de sodio (NaOH, 0.1N). Se dejó esta mezcla agitándose durante 24 horas a una temperatura de 30°C. Se realizó una filtración a vacío utilizando el papel de filtro y el sobrenadante obtenido se mezcló nuevamente con 25 mL de MeOH durante 1 hora a 30°C. Una vez realizado esto, se obtuvo la tercera muestra, denominada FB . Finalmente, la cuarta etapa consistió en tomar los residuos de la tercera etapa y añadirles 25 mL de ácido clorhídrico (HCl, 0,1N). Se dejó esta mezcla agitándose durante 24 horas a una temperatura de 30°C. Se obtuvo el filtrado al que se le añadieron 25 mL de MeOH durante 1 hora a 30°C, y de esta manera se obtuvo la muestra 4, denominada FA. Estas muestras también se conservaron en frascos herméticos a -40°C hasta su análisis.

Para la cuantificación de los fenoles totales de cada una de las fracciones se empleó el ensayo de Folin-Ciocalteu descrito en 3.3.3.1. Los resultados se expresaron en mg AG/ 100 g bs.

### **3.3.4. Carotenoides totales**

Para la determinación de carotenoides totales (CT), se siguió el método de AOAC (1996) y se extrajeron con el disolvente de Hexano:Acetona:Etanol (50:25:25).Se pesaron 1 g de VHF ó 0,3 g de VHP y se le añadió 9 mL de disolvente de extracción (Hexano:Acetona:Etanol). Se agitaron magnéticamente durante 30 min, en oscuridad y a una temperatura ambiente. Seguidamente se centrifugó a 10000rpm/10min/4°C y se tomó el sobrenadante. Por cada 100 mL de sobrenadante, se añadió 10 mL de agua destilada.

Para la cuantificación de los carotenoides totales, se midió la absorbancia a 446 nm (Espectrofotómetro UV-visible Thermo Electron Corporation, Estados Unidos) y los resultados se expresaron como mg  $\beta$ -acaroteno/100 g bs.

### 3.3.5. Vitamina C: Ácido ascórbico y dehidroascórbico

El método consistió en la reducción del ácido dehidroascórbico (DHAA) a ácido ascórbico (AA) empleando con el reactivo DL-ditiotreitol (DTT), según Sánchez-Mata *et al.* (2000) y Sánchez-Moreno *et al.* (2003) y determinación por HPLC según García-Martínez *et al.* (2023).

En primer lugar se extrajo el AA tomando 1g VHF o 0,5 g VHP , con 2 mL de disolución de DTT (20 g/L) y se homogeneizó manualmente. La muestra se mantuvo durante 2 horas en oscuridad y a temperatura ambiente, se homogeneizó de nuevo y se dejó reposar 3 minutos en oscuridad antes de ser filtrarla con un filtro de membrana de 0,45 micrómetros en viales de HPLC.

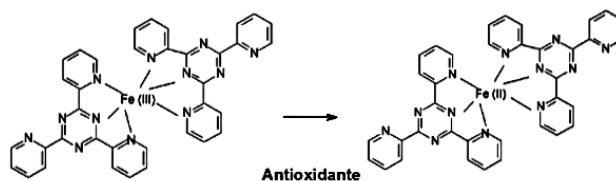
Se empleó el equipo de HPLC (Jasco, Italia), que constaba de una bomba ternaria (Jasco PU-1580 HPLC pump), un generador de gradiente (LG-1580-02 Ternary Gradiente Unit) y un detector (Photo Diode Array Detector, Jasco, Italia). Se utilizó ácido oxálico 0,1% como fase móvil, una columna KromaPhase 100 C18 de 5  $\mu$ m (4,6 X 25 mm) a un flujo de 1 mL/min y a 25  $^{\circ}$ C. Una vez filtrada la muestra, se inyectaron 20  $\mu$ L y la identificación se realizó a una longitud de onda de 243 nm. Los resultados se expresaron en mg AA/100 g bs.

### 3.3.6. Actividad Antioxidante

Utilizando los extractos obtenidos en el análisis de compuestos fenólicos totales y en el análisis de carotenoides totales, se evaluó la actividad antioxidante (AAO) de la fracción hidrofílica y lipofílica de las muestras utilizando los métodos FRAP y DPPH, respectivamente. También se evaluó la AAO en cada una de las fracciones fenólicas obtenidas.

#### 3.3.6.1. FRAP

El principio básico del método FRAP radica en la capacidad de los antioxidantes para reducir el ion férrico a su estado ferroso, tal y como se observa en la **Figura 5**. En este estado, el ión forma un complejo coloreado con el compuesto 2,4,6-Tripiridil-s-Triazina (TPTZ).

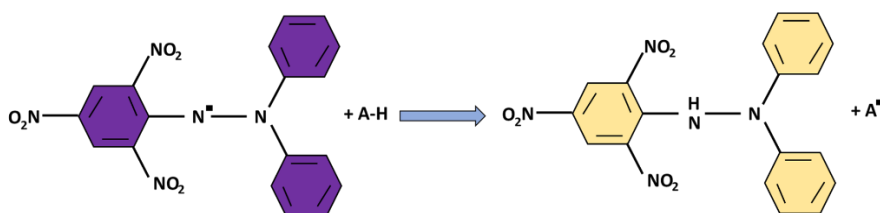


**Figura 5.** Mecanismo de la reacción. Fuente: Claudia Delgadillo Puga.

Se siguió el método descrito por Benzie y Strain (1996), con modificaciones de García-Martínez et al., (2023). El análisis de las muestras se realizó con 30  $\mu\text{L}$  de extracto, al que se añadieron 30  $\mu\text{L}$  de agua bidestilada y 900  $\mu\text{L}$  de reactivo FRAP. Se realizó un blanco de la misma manera sustituyendo el extracto por agua bidestilada. Las mezclas se mantuvieron en un baño a 37°C durante 30 minutos, comprobando siempre la temperatura. Después de ese tiempo, se leyó la absorbancia a 593 nm (Espectrofotómetro UV-visible Thermo Electron Corporation, Estados Unidos). Los resultados se expresaron como mmol de Trolox / 100 g bs.

### 3.3.6.2. DPPH

El método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), se basa en la capacidad de captación de radicales libres que tienen los compuestos antioxidantes presentes en la matriz de un alimento (Sanchez-Moreno et al., 2003). El DPPH  $\cdot$  es un radical libre que presenta una coloración violeta intensa, y cuando se expone a sustancias antioxidantes, se reduce a DPPH-H y se decolora. La medida de la decoloración se utiliza para determinar la capacidad antioxidante de la muestra tal y como se muestra en la **Figura 6**.



**Figura 6.** . Reacción de decoloración por el DPPH. Fuente: WAIVAM-E

Se siguió la metodología descrita por Brand-Williams *et al.* (1995), modificada por García-Martínez et al., (2023). Se mezclaron 3,9 mL de disolución metanólica de DPPH con 100  $\mu\text{L}$  de extracto o de disolvente de extracción (blanco). Se leyó la absorbancia a 515 nm (Espectrofotómetro UVvisible Thermo Electron Corporation, Estados Unidos) a tiempo cero, lo que se denominó  $A_{control}$  y posteriormente cada 5 minutos hasta que se obtuvo un valor constante. En este caso la lectura de absorbancia se estabilizó a los 10 min. Este valor se denominó  $A_{muestra}$ . Los resultados se expresaron en mmol trolox/100g bs.

Para calcular el %DPPH, se siguió la siguiente ecuación:

$$\% DPPH = \frac{(Abs\ control - Abs\ muestra)}{Abs\ control} \times 100 \quad (\text{ec. 5})$$

Siendo:

Abs control: absorbancia sin muestra a tiempo cero minutos.

Abs muestra: absorbancia a tiempo 10 minutos.



### 3.3.7. Índice glucémico estimado (IGE)

Se realizó una digestión in vitro según Loachamín (2015) con algunas modificaciones (Camacho et al., 2023). Se pesaron 2 g de VHF y 1 g de VHP respectivamente, y se agitaron con 20 mL de tampón fosfato. Seguidamente se ajustó el pH a 1,5 y se añadieron 5 mL de solución de pepsina (P7125-100G, Sigma-Aldrich, St. Louis, Estados Unidos). La mezcla se incubó durante 30 min a 37°C. Se volvió a reajustar el pH a un valor de 6,9 utilizando NaOH 6N y se añadió 1 mL de solución alfa-amilasa pancreática porcina (A3176-500U, Sigma-Aldrich, St. Louis, Estados Unidos). La mezcla se pasó a membranas de diálisis y se colocaron en un vaso de precipitados de vidrio con 225 mL de tampón fosfato, y se incubaron durante 120 min a 37 °C. Cada 15 min se retiraron alícuotas de 1 mL de dializado. El contenido de azúcares de las alícuotas se determinó mediante el método DNS.

Para la obtención del resultado se realizaron los cálculos mediante la ecuación 6 para la obtención del índice de hidrólisis, donde “A muestra” equivale al área bajo la curva de la respuesta glucémica (cantidad de glucosa dializada en función del tiempo) de la muestra analizada, y, “A control” representa la misma área con glucosa. Se empleó la ecuación 7 descrita por Granfeldt et al. (2006), para el índice glucémico estimado.

$$\text{Índice de Hidrolisis (IH)} = \left( \frac{A_{\text{muestra}}}{A_{\text{control}}} * 100 \right) \quad (\text{ec. 6})$$

$$\text{Índice glucémico estimado (IGE)} = 0,862 * IH + 8,198 \quad (\text{ec. 7})$$

## 4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para poder evaluar las diferencias significativas entre las muestras, se realizaron análisis de varianza simple (ANOVA) con un nivel de confianza del 95% ( $p < 0,05$ ). Para ello se utilizó el programa Statgraphics Centurion XVIII bajo licencia de la Universitat Politècnica de València.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. EVALUACIÓN DE LA HUMEDAD Y DE LOS COMPUESTOS BIOACTIVOS

Se determinó la humedad de la vaina de haba fresca utilizada como materia prima control, y del producto seco en polvo, obtenido mediante el proceso de liofilización descrito en el apartado 3.2.1. Los valores obtenidos de humedad fueron de 89,36% para VHF y aproximadamente 3,3% para VHP. Kalili et al. (2022) reportó valores similares de humedad ( $87.31 \pm 0.25\%$ ) para muestras de vainas de haba de origen marroquí. El control de la humedad de los productos deshidratados es importante para asegurar su estabilidad. Como era de esperar la liofilización disminuyó significativamente ( $p < 0.05$ ) el contenido en agua del producto, obteniéndose humedades del orden de las aconsejadas por otros autores para asegurar su estabilidad y la conservación de la mayoría de sus características físicas, químicas, biológicas y organolépticas (Barbosa-Canovas et al., (2005).

En relación con los compuestos bioactivos, los resultados de CLT, FT, y CT se muestran en la **Tabla 1** y el contenido en DHHA y AA en la **Figura 7**.

**Tabla 1.** Clorofilas totales (CLT), fenoles totales (FT), carotenoides totales (CT) de las muestras de vaina de haba frescas (VHF) y liofilizadas (VHP). Resultados expresados en mg bioactivo/100 g muestra (base seca)

Muestra	CLT	FT	CT
VHF	120 ± 7 <sup>a</sup>	4101 ± 110 <sup>a</sup>	73±4 <sup>b</sup>
VHP	79 ± 8 <sup>a</sup>	5191 ± 98 <sup>b</sup>	50±3 <sup>a</sup>

Por columnas, valores con distinta letra (a-b) en superíndice presentan diferencias estadísticamente significativas (p<0,05).

La clorofila es el pigmento natural que proporciona el color característico verde a las plantas y se puede presentar de diferentes maneras, pero las más comunes son la clorofila a y b. Pueden tener una función beneficiosa para la salud ya que tienen alta actividad antioxidante, propiedades antiinflamatorias y anticancerígenas (Ebrahimi et al., 2023, Pérez-Porto et al., 2016). Además Ebrahimi et al. (2023) también reportó que se encuentran altos niveles de clorofila en muchos subproductos alimentarios que se desechan, como por ejemplo en los tallos, hojas, pulpas y cáscaras de frutas y hortalizas, pudiéndose utilizar como una fuente de este compuesto bioactivo. En este caso, VHF presentó 120 mg/100g bs, mientras que VHP 79 mg/100g bs. Se observó una disminución significativa (p<0,05) del 34% debido al procesado para la obtención de VHP. Las clorofilas son moléculas relativamente inestables, pueden degradarse por varios factores, como por ejemplo, la luz, el pH, la temperatura, la acción enzimática y la presencia de oxígeno durante la manipulación de las muestras (Gandul Rojas, 1992).

En la **Tabla 1**, observamos que VHF presentó 4101±110 mg AG/100 g bs (440 mg GAE/100g base húmeda), un valor muy similar al descrito por Kalili (2022), que menciona que el contenido de fenoles totales en las vainas de haba oscila entre 480 y 1400 mg AG/100g en base húmeda (bh). Loizzo et al., (2020) evidenció que la cantidad de FT del haba depende principalmente del estado de madurez de la planta. El secado por liofilización aumentó significativamente (p<0,05) un 27% el contenido en FT, obteniéndose en VHP 5191±98 mg AG/100 g bs. El hecho de que VHP tuviera mayor contenido en FT que VHF puede justificarse asumiendo una mayor extracción de estos compuestos en el producto liofilizado, debido a que la mayor porosidad de éste proporciona una mejor eficacia del disolvente de extracción (Michalczyk, MacUra, & Matuszak, 2009). Los fenoles, entre otras funciones, son componentes estructurales de las paredes celulares, otorgan propiedades colorantes y aromatizantes a los vegetales. Además, existen estudios científicos que comprueban que los fenoles tienen varios beneficios en el organismo humano. Se ha demostrado su capacidad antioxidante, antiinflamatoria, antitrombótica y antimicrobiana Aryal et al. (2019).

En la **Tabla 2**, se muestra el contenido en fenoles totales obtenidos en cada fracción fenólica de VHF y de VHP.

**Tabla 2.** Contenido total de fenoles (FT) en las fracciones fenólicas obtenidas de VHF y VHP expresados en mg ácido gálico/100g (base seca).

Muestra	F30	F60	FB	FA	ΣFracciones
VHF	3197 ± 119 <sup>aA</sup>	639 ± 37 <sup>bB</sup>	499 ± 68 <sup>bcB</sup>	361 ± 16 <sup>cB</sup>	4696
VHP	3047 ± 232 <sup>aA</sup>	1056 ± 230 <sup>bA</sup>	247 ± 3 <sup>cA</sup>	110 ± 13 <sup>cA</sup>	4460

Por filas, letras diferentes (a-c) en minúscula y superíndice muestran diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre las distintas fracciones fenólicas según el factor fracción. Por columnas letras diferentes (A-B) en superíndice indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) para cada fracción fenólica según el factor muestra.

Tanto para VHF como para VHP, se observó que predominaron los fenoles libres (F30 y F60) frente a los ligados (FB y FA). Estos resultados resultan consistentes con otros estudios que muestran que la mayoría de los fenoles en frutas y vegetales se encuentran en forma libre (Sun et al., 2002; Alu'datt et al., 2017). En ambas muestras se observaron diferencias significativas en el contenido en fenoles libres entre las extracciones realizadas a 30 y 60 °C ( $p < 0,05$ ), siendo F30 la fracción donde más compuestos fenólicos se extraen (en torno a un 80% y 66% del total antes y después de liofilizar la vaina del haba, respectivamente). Resultados similares han sido descritos por diferentes autores (Alu'datt et al., 2017; Camacho et al., 2022).

Respecto a la obtención de los fenoles ligados, en ambas muestras no se observaron diferencias significativas entre ambas fracciones fenólicas ( $p > 0,05$ ), extrayéndose similar cantidad de fenoles con la extracción básica que con la ácida. Por lo general, en el método convencional de cuantización de FT (Tabla 1) se obtuvo un contenido fenólico comparable al obtenido en la suma de todas las fracciones de fenoles.

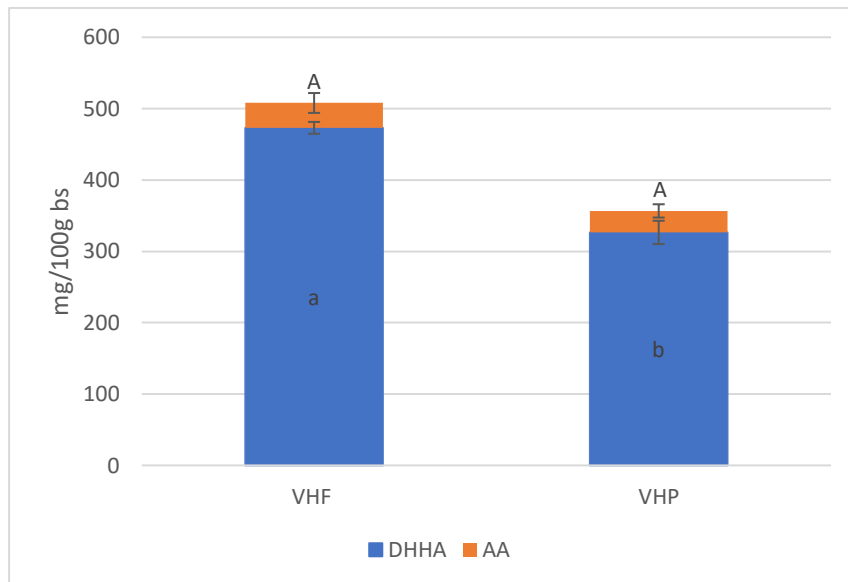
Para analizar el posible efecto de la liofilización en el contenido fenólico de cada fracción se realizaron ANOVAs para cada fracción, según el factor tipo de muestra (VHF y VHP). Respecto a la comparación entre cada fracción fenólica entre ambas muestras, no se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) entre los FT cuantificados en ambas muestras en la fracción F30. Sin embargo, fijándonos en los resultados de la fracción F60, se obtuvo mayor ( $p < 0,05$ ) contenido fenólico en VHP que en VHF, permitiendo la liofilización una mayor extracción de estos compuestos en este caso. En cuanto a la cuantificación de los fenoles ligados, tanto los extraídos con NaOH como con HCL, se observó una disminución significativa con el procesado ( $p < 0,05$ ).

Los carotenoides son pigmentos liposolubles de origen natural que se sintetizan en plantas, algas y bacterias fotosintéticas. Algunos de estos tienen la capacidad de actuar como provitamina A, sobre todo el  $\beta$ -caroteno (Carranco Jáuregui et al., 2011). Son abundantes en las plantas que tienen alto contenido en clorofila, estando presentes en todos los tejidos fotosintéticos, junto a ellas (Meléndez-Martínez et al., 2004). En este sentido, dentro de las leguminosas, se descubrió que las vainas de guisante y de judía verde pueden ser una buena fuente de carotenoides y que podrían utilizarse como ingredientes funcionales (Nartea et al., 2023). Los carotenoides también tienen capacidades antioxidantes. Así, distintos estudios epidemiológicos han demostrado que pueden ser preventivos contra el cáncer y enfermedades cardiovasculares (Ascaso, 2000). Pero hay que tener en cuenta que los carotenoides pueden perder esta actividad antioxidante debido a que se oxidan en presencia de concentraciones altas de oxígeno (Carranco Jáuregui et al., 2011). Para las vainas de haba, VHF presentó  $73 \pm 4$  mg  $\beta$ -caroteno/100g bs, y VHP  $50 \pm 3$  mg  $\beta$ -caroteno/100g bs. Loizzo et al. (2020) reportó valores de aproximadamente 150 mg  $\beta$ -caroteno

/100 g de vaina haba (bs). Según Lu et al. (2018b), explica que el contenido de los fitoquímicos puede variar según la variedad, el estado de maduración de las plantas y las partes del haba. El disolvente y la técnica de extracción empleada también puede afectar a la cuantificación de los compuestos bioactivos. Respecto al proceso de obtención del producto en polvo, ocasionó pérdidas significativas ( $p < 0,05$ ) de este compuesto del 32%. La inestabilidad de los carotenoides se debe a que son compuestos muy insaturados, degradándose principalmente debido a procesos oxidativos, ya sean no enzimáticos o debidos a enzimas como las lipoxigenasas. Así, los factores que influyen en la degradación de carotenoides son la estructura química del carotenoide, la exposición a la luz, actividad del agua y la temperatura durante el manejo del producto (Meléndez-Martínez et al., 2004). Se ha comprobado que los procesos de oxidación son más acusados cuando se pierde la integridad celular, de forma que en alimentos vegetales triturados, la pérdida de compartimentación celular pone en contacto sustancias que pueden modificar estructuralmente, e incluso destruir los pigmentos. Otros estudios consideran que el escaldado industrial de los alimentos también puede producir pérdidas de carotenoides, si bien la inactivación enzimática que produce previene pérdidas posteriores durante el procesado y almacenamiento (Rodríguez-Amaya, 1999). Por otra parte, se han observado pérdidas de carotenoides del orden de 15-30% debido a reacciones de isomerización, conversión de trans- $\beta$ -caroteno en su isómero cis, en vegetales procesados (Gandul Rojas, 1992). Meléndez-Martínez et al. (2004) explicó en su trabajo que la proporción de isómeros aumenta con las elevadas temperaturas de deshidratación y los bajos niveles de humedad en productos secos.

La Vitamina C se puede presentar de dos maneras, en estados reducido (AA) y en su estado oxidado (DHHA) (Cisternas et al., 2014), teniendo ambos estados acción vitamínica en nuestro organismo. Los beneficios que abarca el consumo de Vitamina C son interesantes, ya que pueden influir en la protección contra las deficiencias del sistema inmunitario, las enfermedades cardiovasculares, los problemas de salud prenatales, las enfermedades de los ojos y el envejecimiento (Kathleen, 2008). Las cantidades recomendables de ingesta diaria de Vitamina C son aproximadamente de 90 mg en hombres adultos y 75 mg en mujeres adultas. Además, si no se llega por lo menos a los 10 mg de vitamina C diarios hay grandes riesgos de contraer escorbuto (National Institutes of Health, 2019).

El contenido en Vitamina C de VHF y VHP se muestra en la siguiente figura (**Figura 7**).

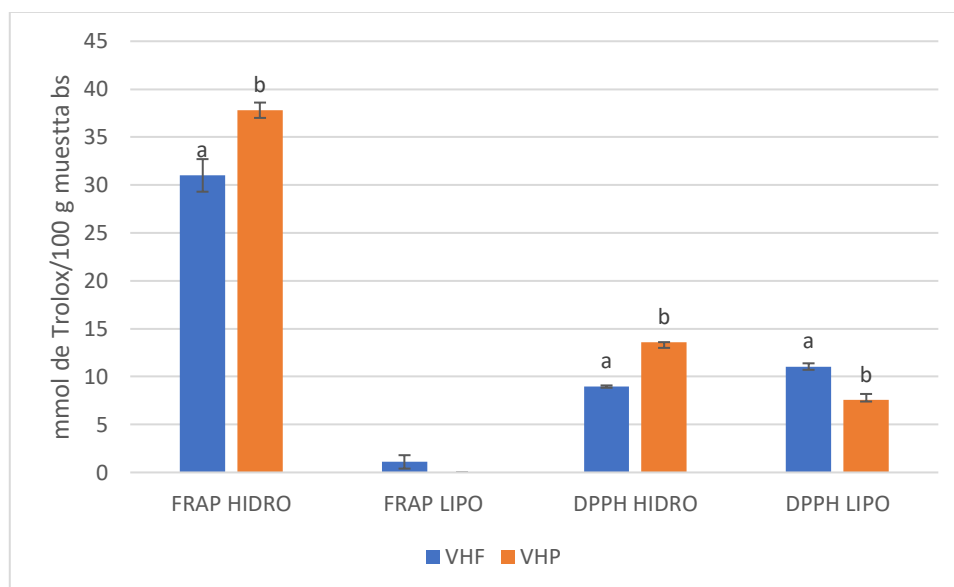


**Figura 7.** Contenido de Vitamina C de la vaina de haba fresca (VHF) y de la vaina de haba liofilizada en polvo (VHP) en su forma reducida (ácido ascórbico, AA) y en su forma oxidada (ácido dehidroascórbico, DHHA), expresado en mg/100g de muestra en base seca. Las letras a-b indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) el contenido en AA entre las muestras y las letras A-B indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) el contenido en DHHA entre las muestras

Se obtuvieron valores de vitamina C de 507,95 mg/100 g bs en VHF y 356,69 en VHP mg/100 g bs. Renna et al. (2020) analizaron el contenido en ácido ascórbico en diferentes genotipos de vainas de haba fresca, con un valor medio que oscila entre 30 - 58 mg/100g (bh), siendo nuestro valor de 35 mg/100g expresado en bh. Se observa que predomina el estado oxidado frente al reducido tanto en VHF como en VHP. Los valores de DHHA en las muestras fueron de  $473 \pm 8$  mg/100g bs en VHF y  $327 \pm 16$  mg/100g bs en VHP, produciéndose pérdidas significativas debido al procesado (31%,  $p < 0,05$ ). El contenido de AA de VHF fue de  $35 \pm 15$  mg/100g bs. El secado por liofilización no ocasionó pérdidas ( $p > 0,05$ ) de AA, observándose un contenido de AA en VHP de  $30 \pm 9$  mg/100g bs.

## 5.2. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

La AAA de un alimento depende de la concentración de sus compuestos bioactivos, como las vitaminas, compuestos fenólicos o carotenoides. Ya que dicha actividad es debida a reacciones sinérgicas entre distintos compuestos, es recomendable emplear más de un método para medir correctamente dicha actividad (Thaipong et al., 2006). En la **Figura 8** se encuentran los valores medios de la AAO, por los dos métodos utilizados, FRAP y DPPH, con su desviación estándar, de las diferentes muestras analizadas, VHF y VHP. Dentro de cada método se han analizado las extracciones hidrofílicas, que corresponden a las extracciones de los fenoles totales y las extracciones lipofílicas, que corresponden a los carotenoides totales.



**Figura 8.** Actividad antioxidante de las muestras de la vaina de haba fresca (VHF) y de la vaina de haba liofilizada en polvo (VHP) analizada mediante dos métodos (FRAP y DPPH). La fracción hidrofílica (Hidro) corresponde a la extracción fenólica y la lipofílica (Lipo) corresponde a la extracción de los carotenoides totales. Para cada método de análisis y para cada extracción, las letras a-b indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en la actividad antioxidante entre las muestras.

En este trabajo, en general para ambos métodos de medición utilizados, se observó que la AAO proporcionada por la fracción hidrosoluble fue mayor que la liposoluble, esto concuerda con el mayor contenido en compuesto fenólicos que carotenoides, tal y como se ha mostrado en la Tabla 2, y también se ha observado por otros autores en diferentes tipos de vegetales (Pérez-Jiménez et al., 2008).

Con el método FRAP se midió la capacidad de los compuestos antioxidantes de las muestras para reducir el ion férrico a ferroso. En el caso de la extracción hidrofílica, se observó que la AAO de VHF ( $30,8 \pm 1,7$  mmol de Trolox/100g bs) fue estadísticamente menor ( $p < 0,05$ ) que la de VHP ( $38,2 \pm 0,3$  mmol de Trolox/100g bs). Una posible explicación es que en las muestras liofilizadas, se extrajeran más compuestos antioxidantes, en este caso fenoles, tal y como hemos explicado en el apartado 5.1. En cuanto a la AAO del extracto lipofílico medido mediante FRAP, destacó que la VHP no presentó actividad antioxidante. La muestra fresca sí que reportó un valor de  $1,1 \pm 0,7$  mmol de Trolox/100g bs. La disminución de la AAO en este caso parece debido a la disminución de los carotenoides debido al proceso de liofilización, tal y como se mostró en la **Tabla 1**.

Respecto a la AAO de la parte hidrofílica analizada por el método DPPH, sucedió algo parecido a lo comentado en el método FRAP. Se observó que VHF reportó un valor de AAO estadísticamente menor ( $p < 0,05$ ) que VHP ( $8,96 \pm 0,12$  mmol de Trolox/100g bs y  $13,6 \pm 0,4$  mmol de Trolox/100g bs, respectivamente). En este caso, la liofilización ocasionó un aumento de AAO del 34% respecto a la VHF. Respecto a la parte lipofílica, se produjo una pérdida del 31% de la AAO del producto liofilizado.

En la **Tabla 3**, se muestran la AAO medida por los métodos FRAP y DPPH de las distintas fracciones fenólicas obtenidas de VHF y VHP.

**Tabla 3.** Actividad antioxidante medida por los métodos FRAP y DPPH, de las fracciones fenólicas obtenidas a partir de la vaina de haba fresca (VHF) y la vaina de haba en polvo (VHP). Los resultados se expresan en mmol de Trolox/100g en base seca.

Método	Muestra	F30	F60	FB	FA	ΣFracciones
FRAP	VHF	11,9 ± 0,6 <sup>aA</sup>	6,7 ± 0,3 <sup>bA</sup>	0 <sup>cA</sup>	0 <sup>cA</sup>	18,6
	VHP	34 ± 2 <sup>aB</sup>	13,5 ± 0,7 <sup>bB</sup>	0,44 ± 0,13 <sup>cB</sup>	0 <sup>cA</sup>	47,94
DPPH	VHF	2,99 ± 0,09 <sup>bA</sup>	3,35 ± 0,14 <sup>aA</sup>	1,65 ± 0,15 <sup>cA</sup>	1,9 ± 0,9 <sup>cA</sup>	9,89
	VHP	10,2 ± 0,5 <sup>aB</sup>	6,0 ± 0,5 <sup>bB</sup>	1,12 ± 0,08 <sup>cB</sup>	1,57 ± 0,17 <sup>cB</sup>	18,89

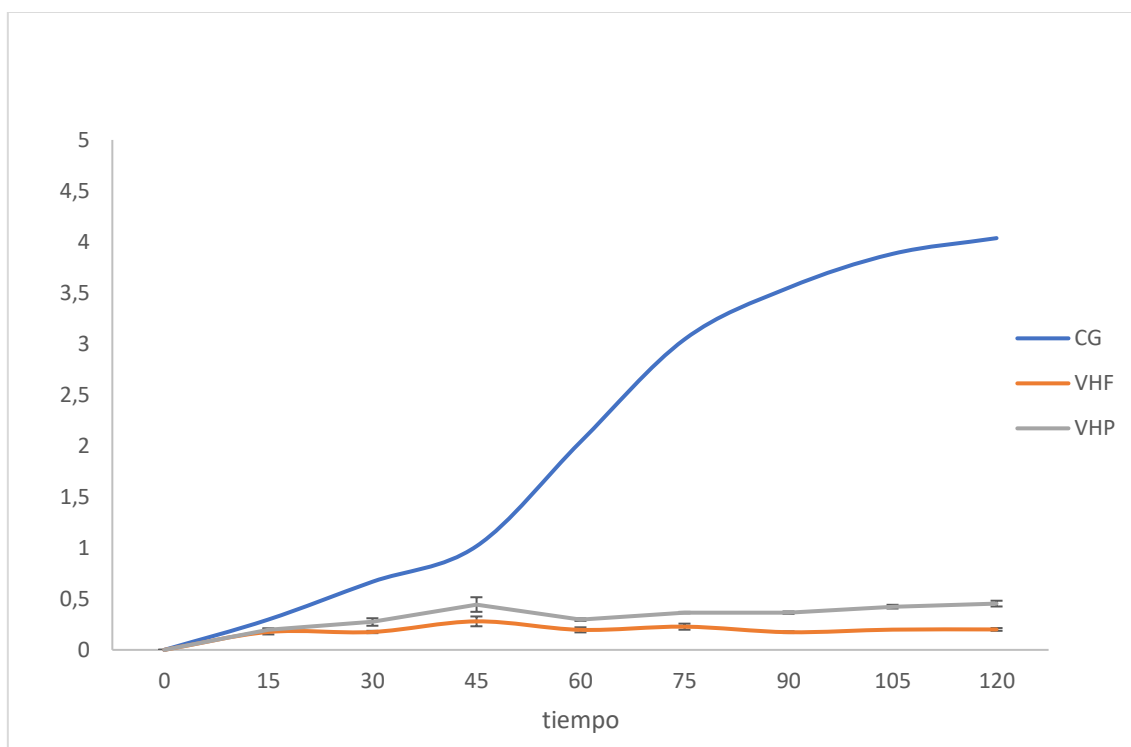
Para cada método de análisis FRAP ó DPPH, por filas, letras a-c en minúscula y superíndice muestran diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre las distintas fracciones fenólicas según el factor fracción. Para cada método de análisis FRAP ó DPPH, por columnas letras A-B en superíndice indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) para cada fracción fenólica según el factor muestra.

Para ambos métodos se observó que la AAO de las fracciones de fenoles libres fue mayor ( $p < 0,05$ ) que la de fenoles ligados. En el método FRAP las fracciones de fenoles ligados no presentaron actividad antioxidante. En general la AAO de F30 fue mayor ( $p < 0,05$ ) que F60, mostrando que la mayor cantidad de fenoles libres que aportan AAO en este caso, son extraídos en la primera etapa de extracción a 30°C. En el método DPPH ocurrió algo muy parecido, en el caso de las fracciones de los fenoles ligados no se observaron diferencias significativas entre la fracción extraída con NaOH y HCl.

Al igual que se hizo en el caso de las fracciones fenólicas para ver el efecto de la liofilización, realizaron ANOVAs para la AAO de cada fracción, según el factor tipo de muestra (VHF y VHP). Los valores obtenidos de AAO son comparables a la tendencia observada en la **Figura 8**. Así, comparando los resultados de AAO entre VHF y VHP, tanto en el método FRAP como en el método DPPH, la muestra liofilizada presentó mayor ( $p < 0,05$ ) AAO en las fracciones de fenoles libres F30 y F60 que VHF. En cuanto a la AAO de las fracciones de los fenoles ligados, la muestra VHF presentó mayor AAO ( $p < 0,05$ ) que VHP, lo cual tiene sentido al ser la muestra fresca la que mayor contenido fenólico ligado presentó (**Tabla 2**).

### 5.3. EVALUACIÓN DEL ÍNDICE GLUCÉMICO ESTIMADO

En la **Figura 9** se observa la curva de la respuesta glucémica de las muestras de VHF y VHP respecto a la del control de glucosa, para ver cuál fue su comportamiento en cuanto a la absorción de carbohidratos. Además se calculó el índice de hidrólisis, necesario para calcular el IGE, utilizando las ecuaciones 3 y 4, respectivamente, descritas en el apartado 3.3.6.



**Figura 9.** Curva de la respuesta glucémica de las muestras de vaina de haba fresca (VHF) y de la vaina de haba liofilizada (VHP), frente al control de glucosa (CG).

El índice glucémico (IG) se ve influenciado por la velocidad de digestión y absorción de los carbohidratos en el sistema gastrointestinal. Los carbohidratos que se absorben rápidamente tienen un IG alto, mientras que aquellos que se absorben lentamente generan respuestas glucémicas más estables, y por lo tanto, tienen un IG bajo (Ludwig, 2002).

Un producto alimenticio que posea un alto índice glucémico indica que sus glúcidos son absorbidos y procesados metabólicamente velozmente. Para considerar a un alimento de alto IG, su IG debe ser igual o mayor a 70, como por ejemplo el puré de patata (IG: 80), mientras que un IG medio varía de 55 a 70 (plátano IG: 62, pan blanco IG: 69). Por su parte, los IG bajos son aquellos que no alcanzan el valor de 55 (uva IG: 45, tomate IG: 38, pomelo IG: 26) (Murillo, 2012). Cuanto menor sea el índice glucémico, menor será el aumento de glucosa en sangre y segregación de insulina (Manuzza, et al., 2018). Di Cairano et al. (2020) reportó valores de 47,69 IG para la harina de guisante y 48,74 para la harina de lentejas.

Para la vaina de haba fresca y en polvo se pudo observar que los valores obtenidos de índice glucémico estimado fueron de 16,16 para la VHF y 21,73 para VHP. Comparándolos con los valores de otros alimentos anteriormente mencionados, se puede afirmar que ambas muestras presentaron un valor bajo de IG. El bajo IG de la vaina del haba indica que sus carbohidratos se absorben de forma lenta y, por tanto, su consumo puede ser una herramienta para ayudar en el control del nivel de glucosa postprandial, que resulta especialmente indicado para personas que padecen enfermedades como la diabetes mellitus tipo II o el sobrepeso. Arteaga Llona et al., (2006) mencionó que los alimentos con IG bajo son mejores para la salud. Según la FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, 2001), los alimentos



que tienen un bajo IG son recomendados para personas que padecen enfermedades no transmisibles, como diabetes, obesidad y sobrepeso.

## 6. CONCLUSIÓN

De acuerdo con los resultados obtenidos, el subproducto liofilizado de vaina de haba en polvo es un residuo con una buena composición en compuestos bioactivos (vitamina C en forma de ácido dehidroascórbico, clorofilas, polifenoles y carotenoides) con propiedades antioxidantes. Respecto a la actividad antioxidante, se observó que la fracción hidrofílica presentó una actividad mucho mayor que la fracción lipofílica. Además, la fracción de fenoles libres fue la que mayor actividad antioxidante aportó frente a la fracción de los compuestos fenólicos ligados a otras estructuras celulares. Asimismo, su bajo índice glucémico estimado le confiere una cierta capacidad para la regulación de la glucosa postprandial y lo hace especialmente indicado para personas que padecen obesidad y diabetes.

En este sentido este subproducto del procesado del haba en polvo muestra un valor funcional prometedor que podría ser utilizado como ingrediente en la industria agroalimentaria. Con su valorización para su empleo en alimentación humana, se estaría impulsando la protección del medio ambiente y el desarrollo económico, al mismo tiempo que se contribuiría a una alimentación saludable y sostenible.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

- A.O.A.C. (1990) Official Methods of Analysis. 15th Edition, Association of Official Analytical Chemist, Washington DC. Recuperado el 1 de junio de 2023
- Abu-Reidah, I. M., Arráez-Román, D., Warad, I., Fernández-Gutiérrez, A., & Segura-Carretero, A. (2017). UHPLC/MS 2 -based approach for the comprehensive metabolite profiling of bean ( *Vicia faba* L.) by-products: A promising source of bioactive constituents. *Food Research International*, 93, 87-96. Recuperado el 14 de mayo de 2023, de doi: [10.1016/j.foodres.2017.01.014](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.01.014)
- Alu'datt, M. H., Rababah, T., Alhamad, M. N., Al-Mahasneh, M., Ereifej, K., Al-Karaki, G. N., Al-Duais, M. A., Andrade, J. E., Tranchant, C. C., Kubow, S., & Ghozlan, K. A. (2017). Profiles of free and bound phenolics extracted from Citrus fruits and their roles in biological systems: content, and antioxidant, anti-diabetic and anti-hypertensive properties. *Food & Function*, 8(9), 3187-3197. Recuperado el 20 de mayo de 2023, de [doi: 10.1039/c7fo00212b](https://doi.org/10.1039/c7fo00212b)
- Antony, A., & Farid, M. (2022). Effect of Temperatures on Polyphenols during Extraction. *Applied sciences*, 12(4), 2107. Recuperado el 10 de junio de 2023, de [doi: 10.3390/app12042107](https://doi.org/10.3390/app12042107)
- Arozarena, I. (2015, 19 octubre) 'Alimentos sin desperdicio', *Wordpress*. Recuperado el 07 de mayo de 2023, de <https://www.citethisforme.com/cite/sources/blogmanualcite>

- Arteaga Llona, A. (2006). El Índice glicémico: Una controversia actual. *Nutrición Hospitalaria*, 21(Supl. 2), 55-60. Recuperado en 16 de junio de 2023, de [http://scielo.isciii.es/scielo.php?scriptsci\\_arttext&pid=S0212-16112006000500006&Ing=es&tIng=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?scriptsci_arttext&pid=S0212-16112006000500006&Ing=es&tIng=es).
- Aryal, S., Baniya, M. K., Danekhu, K., Kunwar, P., Gurung, R., & Koirala, N. (2019). Total Phenolic Content, Flavonoid Content and Antioxidant Potential of Wild Vegetables from Western Nepal. *Plants (Basel, Switzerland)*, 8(4), 96. Recuperado el 16 de junio de 2023, de [doi:10.3390/plants8040096](https://doi.org/10.3390/plants8040096)
- Ascaso, J. (2000). Antioxidantes y enfermedad cardiovascular. *Endocrinología y Nutrición*, 47(7), 191-196. Recuperado el 14 de junio de 2023, de <https://www.elsevier.es/es-revista-endocrinologia-nutricion-12-articulo-antioxidantes-enfermedad-cardiovasculares-12571>
- Barbosa-Cánovas, G. V., Ortega-Rivas, E., Juliano, P., & Yan, H. (2005). *Food powders: physical properties, processing, and functionality* (Vol. 86, pp. 71-75). New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers. Recuperado el 6 de junio de 2023.
- Benzie, I. F., & Strain, J. (1999). [2] Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. En *Methods in Enzymology* (pp. 15-27). Academic Press. Recuperado el 29 de mayo de 2023, de [doi:10.1016/s0076-6879\(99\)99005-5](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(99)99005-5)
- Boukhanouf, R., Louaileche, H., & Perrin, D. (2016). Phytochemical content and in vitro antioxidant activity of faba bean (*Vicia faba* L.) as affected by maturity stage and cooking practice. *International food research journal*, 23(3), 954-961. Recuperado el 24 de mayo de 2023, de <https://hal.univ-lorraine.fr/hal-03060117>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 28(1), 25-30. Recuperado el 16 de mayo de 2023, de [doi:10.1016/s0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/s0023-6438(95)80008-5)
- Britannica, T. Editors of Encyclopaedia (2023, May 11). chlorophyll. *Encyclopedia Britannica*. Recuperado el 14 de junio de 2023, de <https://www.britannica.com/science/chlorophyll>
- Carranco Jáuregui, M.E., Calvo Carrillo, M. de la Concepción., & Fernando Pérez-Gil, R. (2011). Carotenoides y su función antioxidante: Revisión. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 61 (3), 2309-5806. Recuperado el 15 de mayo de 2023, de <http://www.alanrevista.org/ediciones/2011/3/art-1/>
- Cisternas, P., Silva-Alvarez, C., Martínez, F. P., Fernández, E., Ferrada, L., Oyarce, K., Salazar, K., Bolaños, J. P., & Nualart, F. (2014). The oxidized form of vitamin C, dehydroascorbic acid, regulates neuronal energy metabolism. *Journal of Neurochemistry*, 129(4), 663-671. Recuperado el 15 de junio de 2023, de [doi:10.1111/jnc.12663](https://doi.org/10.1111/jnc.12663)
- Cuq, B., Gaiani, C., Turchiuli, C., Galet, L., Scher, J., Jeantet, R., ... & Ruiz, T. (2013). Advances in food powder agglomeration engineering. *Advances in food and nutrition research*, 69, 41-103. Recuperado el 23 de mayo de 2023.

- Del Mar Camacho, M., Martínez-Lahuerta, J. J., Ustero, I., García-Martínez, E., & Martínez-Navarrete, N. (2023). Composition of Powdered Freeze-Dried Orange Juice Co-Product as Related to Glucose Absorption In Vitro. *Foods*, 12(6), 1127. Recuperado el 23 de junio de 2023, de [doi:10.3390/foods12061127](https://doi.org/10.3390/foods12061127)
- Del Mar Camacho, M., Zago, M., García-Martínez, E., & Martínez-Navarrete, N. (2022). Free and Bound Phenolic Compounds Present in Orange Juice By-Product Powder and Their Contribution to Antioxidant Activity. *Antioxidants*, 11(9), 1748. Recuperado el 23 de junio de 2023, de [doi:10.3390/antiox11091748](https://doi.org/10.3390/antiox11091748)
- Delgado-Andrade, C., Olías, R., Jiménez-López, J. C., & Clemente, A. (2016). Aspectos de las legumbres nutricionales y beneficiosos para la salud humana. *Arbor*, 192(779), a313. Recuperado el 14 de mayo de 2023, de [doi:10.3989/arbor.2016.779n3003](https://doi.org/10.3989/arbor.2016.779n3003)
- Di Cairano, M., Condelli, N., Caruso, M. C., Marti, A., Cella, N., & Galgano, F. (2020). Functional properties and predicted glycemic index of gluten free cereal, pseudocereal and legume flours. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 133, 109860. Recuperado el 16 de mayo de 2023, de [doi:10.1016/j.lwt.2020.109860](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109860)
- Díaz-Osorio, Alejandra, Martínez-Castaño, Marcela, Contreras-Calderon, José, & Gallardo-Cabrera, Cecilia. (2019). Glycemic Index in vitro, Phenolic Content and Antioxidant Activity of a Snacks made with unripe banana (*Musa paradisiaca*) and Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) Flours. *Información tecnológica*, 30(5), 111-120. Recuperado el 20 de junio de 2023, de [doi:10.4067/S0718-07642019000500111](https://doi.org/10.4067/S0718-07642019000500111)
- Ebrahimi, P., Shokramraji, Z., Tavakkoli, S., Mihaylova, D., & Lante, A. (2023). Chlorophylls as Natural Bioactive Compounds Existing in Food By-Products: A Critical Review. *Plants*, 12(7), 1533. Recuperado el 15 de junio de 2023, de [doi:10.3390/plants12071533](https://doi.org/10.3390/plants12071533)
- Eisenhauer, B., Natoli, S., Liew, G., & Flood, V. M. (2017). Lutein and Zeaxanthin-Food Sources, Bioavailability and Dietary Variety in Age-Related Macular Degeneration Protection. *Nutrients*, 9(2), 120. Recuperado el 1 de junio de 2023, de [doi:10.3390/nu9020120](https://doi.org/10.3390/nu9020120)
- El-Bok, S., Zoghalmi-Khelil, A., Ben-Brahim, T., Ouji, A., Hassen, H., Lamine, O., Jabri, C., Douggari, R., & El-Gazzah, M. (2014). Chromosome number and karyotype analysis of some taxa of Vicia genus (Fabaceae): revision and description. *International Journal of Agriculture and Biology*, 16(6), 1067-1074. Recuperado el 14 de mayo de 2023, de <https://www.cabdirect.org/abstracts/20153077606.html>
- Elejalde Guerra, JI. (2001). Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. *Anales de Medicina Interna*, 18 (6), 50-59. Recuperado el 16 de mayo de 2023, de [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0212-71992001000600010&lng=es&tlng=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-71992001000600010&lng=es&tlng=es).
- FAO (Sin fecha). El estado mundial de la agricultura y la alimentación. Indicador 12.3.1-Pérdidas y desperdicio mundiales de alimentos. *Objetivos de Desarrollo Sostenible*. Recuperado el 14 de mayo de 2023, de <https://www.fao.org/sustainable-development-goals/indicators/1231/es/>

- FAO. (2019). El estado mundial de la agricultura y la alimentación. Progresos en la lucha contra la pérdida y el desperdicio de alimentos. Roma. Recuperado el 07 de mayo de 2023, de <https://www.fao.org/3/ca6030es/ca6030es.pdf>
- Fendri, L. B., Chaari, F., Kallel, F., Koubaa, M., Zouari-Ellouzi, S., Kacem, I., Chaabouni, S. E., & Ghribi-Aydi, D. (2022). Antioxidant and antimicrobial activities of polyphenols extracted from pea and broad bean pods wastes. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16(6), 4822-4832. Recuperado el 22 de mayo de 2023, de [doi:10.1007/s11694-022-01547-3](https://doi.org/10.1007/s11694-022-01547-3)
- Gandul Rojas, B. (1992). Degradación de clorofilas y carotenoides durante la elaboración de aceitunas verdes de mesa. (Tesis Doctoral Inédita). Universidad de Sevilla, Sevilla. Recuperado el 10 de junio de 2023..
- García-Martínez, E., Del Mar Camacho, M., & Martínez-Navarrete, N. (2023b). In Vitro Bioaccessibility of Bioactive Compounds of Freeze-Dried Orange Juice Co-Product Formulated with Gum Arabic and Modified Starch. *Molecules*, 28(2), 810. Recuperado el 23 de junio de 2023, de [doi:10.3390/molecules28020810](https://doi.org/10.3390/molecules28020810)
- García-Solís, S. E., Bello-Pérez, L. A., Agama-Acevedo, E., & Flores-Silva, P. C. (2017b). Plantain flour: A potential nutraceutical ingredient to increase fiber and reduce starch digestibility of gluten-free cookies. *Starch-starke*, 70(1-2), 1700107. Recuperado el 4 de junio de 2023, de [doi:10.1002/star.201700107](https://doi.org/10.1002/star.201700107)
- González-Gallego, J., Sánchez-Campos, S., & Tuñón, MJ. (2007). Propiedades antiinflamatorias de los flavonoides dietéticos. *Nutrición Hospitalaria*, 22 (3), 287-293. Recuperado el 18 de mayo de 2023, de [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0212-16112007000400002&lng=es&tlng=en](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112007000400002&lng=es&tlng=en).
- Granfeldt, Y., Wu, X., & Björck, I. (2006). Determination of glycaemic index; some methodological aspects related to the analysis of carbohydrate load and characteristics of the previous evening meal. *European journal of clinical nutrition*, 60(1), 104–112. Recuperado el 13 de junio de 2023, de [doi:10.1038/sj.ejcn.1602273](https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602273)
- Kalili, A., El Ouafi, R., Aboukhalaf, A., Naciri, K., Tbatou, M., Essaih, S., Belahyan, A., & Belahsen, R. (2022). Chemical composition and antioxidant activity of extracts from Moroccan fresh fava beans pods (*Vicia Faba L.*). *Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny*, 73(1), 79–86. Recuperado el 15 de junio de 2023, de [doi:10.32394/rpzh.2022.0194](https://doi.org/10.32394/rpzh.2022.0194)
- Kathleen M. Zelman, RD, LD, MPH. (2008, 8 abril). The Benefits of Vitamin C. WebMD. Recuperado el 16 de junio de 2023, de <https://www.webmd.com/diet/features/the-benefits-of-vitamin-c>
- Krenz, L. M. M., Grebenteuch, S., Zocher, K., Rohn, S., & Pleissner, D. (2023). Valorization of faba bean (*Vicia faba*) by-products. *Biomass Conversion and Biorefinery*. Recuperado el 12 de junio de 2023, de [doi:10.1007/s13399-023-03779-9](https://doi.org/10.1007/s13399-023-03779-9)
- Li, L., Pegg, R. B., Eitenmiller, R. R., Chun, J., & Kerrihard, A. L. (2017). Selected nutrient analyses of fresh, fresh-stored, and frozen fruits and vegetables. *Journal of Food Composition and Analysis*, 59, 8-17. Recuperado el 17 de junio de 2023, de [doi:10.1016/j.jfca.2017.02.002](https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.02.002)

- Liang, P., Xu, J., & Li, Q. (2008). Application of dispersive liquid–liquid microextraction and high-performance liquid chromatography for the determination of three phthalate esters in water samples. *Analytica Chimica Acta*, 609(1), 53-58. Recuperado el 18 de mayo de 2023, de [doi:10.1016/j.aca.2007.12.025](https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.12.025)
- Loachamín Pillajo, B.A. (2015). Estimación del índice Glucémico en productos sin gluten elaborados con pseudocereales. [Trabajo Fin de Grado, Universidad de Zaragoza]. Recuperado el 16 de junio de 2023, de <https://zaguan.unizar.es/record/47277>
- Loizzo, M. R., Bonesi, M., Loizzo, M. R., Falco, T., Tundis, R., & Tundis, R. (2020). Chemical Profile and In Vitro Bioactivity of Vicia faba Beans and Pods. Recuperado el 22 de mayo de 2023, de [doi:10.3390/foods\\_2020-07712](https://doi.org/10.3390/foods_2020-07712)
- Lu, Y., Tian, C., Gao, C., Wang, B., Yang, W., Kong, X., Chai, L., Chen, G., Yin, X., & He, Y. (2018b). Phenolic composition, antioxidant capacity and inhibitory effects on  $\alpha$ -glucosidase and lipase of immature faba bean seeds. *International Journal of Food Properties*, 21(1), 2366-2377. Recuperado el 29 de mayo de 2023, de [doi:10.1080/10942912.2018.1522331](https://doi.org/10.1080/10942912.2018.1522331)
- Ludwig, D. S. (2002). The Glycemic Index: physiological mechanisms relating to obesity, diabetes, and cardiovascular disease. *JAMA*, 287(18), 2414. Recuperado el 30 de mayo de 2023, de [doi:10.1001/jama.287.18.2414](https://doi.org/10.1001/jama.287.18.2414)
- Manuzza, Marcela Alejandra, Brito, Graciela, Echegaray, Natalia Soledad, & López, Laura Beatriz. (2018). Índice glucémico y carga glucémica: su valor en el tratamiento y la prevención de las enfermedades crónicas no transmisibles. *Diaeta*, 36(162), 29-38. Recuperado en 22 de junio de 2023, de [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1852-73372018000100005&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1852-73372018000100005&lng=es&tlng=es).
- Martínez-Castaño, M., Díaz, D., Contreras-Calderón, J., & Cabrera, C. (2020). Physicochemical properties of bean pod (*Phaseolus vulgaris*) flour and its potential as a raw material for the food industry. *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, 73(2), 9179-9187. Recuperado el 12 de mayo de 2023, de [doi:10.15446/rfnam.v73n2.81564](https://doi.org/10.15446/rfnam.v73n2.81564)
- Mateos-Aparicio, I., Redondo-Cuenca, A., & Villanueva-Suárez, M. (2012). Broad bean and pea by-products as sources of fibre-rich ingredients: potential antioxidant activity measured in vitro. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(3), 697-703. Recuperado el 18 de mayo de 2023, de <https://doi.org/10.1002/jsfa.4633>
- Mejri, F., Selmi, S., Martins, A. M. C., Benkhoud, H., Baati, T., Chaabane, H., Njim, L., Serralheiro, M. L., Rauter, A. P., & Hosni, K. (2018). Broad bean (*Vicia faba* L.) pods: a rich source of bioactive ingredients with antimicrobial, antioxidant, enzyme inhibitory, anti-diabetic and health-promoting properties. *Food & Function*, 9(4), 2051-2069. Recuperado el 22 de mayo de 2023, de [doi:10.1039/c8fo00055g](https://doi.org/10.1039/c8fo00055g)
- Meléndez-Martínez, Antonio J., Vicario, Isabel M., & Heredia, Francisco J. (2004). Estabilidad de los pigmentos carotenoides en los alimentos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 54(2), 209-215. Recuperado en 12 de junio de 2023, de [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0004-06222004000200011&lng=es&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222004000200011&lng=es&tlng=es).

- Michalczyk, M., MacUra, R., & Matuszak, I. (2009). The effect of air-drying, freeze-drying and storage on the quality and antioxidant activity of some selected berries. *Journal of Food Processing and Preservation*, 33(1), 11–21. Recuperado el 30 de mayo de 2023, de [doi:10.1111/j.1745-4549.2008.00232.x](https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2008.00232.x).
- Mieszczakowska-Frać, M., Celejewska, K., & Płocharski, W. (2021). Impact of Innovative Technologies on the Content of Vitamin C and Its Bioavailability from Processed Fruit and Vegetable Products. *Antioxidants*, 10(1), 54. Recuperado el 19 de mayo de 2023, de [doi:10.3390/antiox10010054](https://doi.org/10.3390/antiox10010054)
- Murillo, S. (2012). El índice glucémico de los alimentos. Fundación para la Diabetes novo nordisk. Recuperado el 29 de junio de 2023, de <https://www.fundaciondiabetes.org/general/articulo/47/el-indice-glucemico-de-los-alimentos>
- Nartea, A., Kuhalskaya, A., Fanesi, B., Orhotohwo, O. L., Susek, K., Rocchetti, L., Di Vittori, V., Bitocchi, E., Pacetti, D., & Papa, R. (2023). Legume byproducts as ingredients for food applications: Preparation, nutrition, bioactivity, and techno-functional properties. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 22(3), 1953-1985. Recuperado el 29 de mayo de 2023, de [doi:10.1111/1541-4337.13137](https://doi.org/10.1111/1541-4337.13137)
- National Institutes of Health (2019). Office of Dietary Supplements - Vitamina C. Recuperado el 19 de junio de 2023, de <https://ods.od.nih.gov/factsheets/VitaminC-DatosEnEspanol/>
- Orrego Alzate, C. (2008). Congelación y liofilización de alimentos. Universidad Nacional de Colombia. Recuperado el 26 de mayo de 2023, de <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/10647>
- Pérez Porto, J., Gardey, A. (12 de octubre de 2016). Clorofila - Qué es, definición y concepto. Definicion.de. Última actualización el 8 de enero de 2018. Recuperado el 10 de junio de 2023, de <https://definicion.de/clorofila/>
- Pérez-Jiménez, J., Arranz, S., Taberner, M. J., Rubio, M. E. D., Serrano, J., Goñi, I., & Saura-Calixto, F. (2008). Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. *Food Research International*, 41(3), 274-285. Recuperado el 22 de junio de 2023, de [doi:10.1016/j.foodres.2007.12.004](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.12.004)
- PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; ARRANZ, S.; TABERNERO, M.; DÍAZ-RUBIO, M. E.; SERRANO, J.; GOÑI, I.; SAURA-CALIXTO, F., 2008. Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. *Food Research International*, 41(3): 274-285. Recuperado el 9 de junio de 2023.
- Puupponen-Pimiä, R., Häkkinen, S. T., Aarni, M., Suortti, T., Lampi, A., Euro, M., Piironen, V., Nuutila, A., & Oksman-Caldentey, K. (2003). Blanching and long-term freezing affect various bioactive compounds of vegetables in different ways. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(14), 1389-1402. Recuperado el 17 de junio de 2023, de [doi:10.1002/jsfa.1589](https://doi.org/10.1002/jsfa.1589)
- Quiñones, M., Miguel, M., & Aleixandre, A. (2012). Polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables en el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*, 27 (1), 76-89.

Recuperado el 18 de mayo de 2023, de [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0212-16112012000100009&lng=es&tlng=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112012000100009&lng=es&tlng=es).

- Regal, M. L. L., Morales, R. G. E., Morey, R. J. R., Morey, J. R., Pérez, D. I., & González, L. M. B. (2018). La teoría del estrés oxidativo como causa directa del envejecimiento celular. *MediSur*, 16(5), 699-710. Recuperado el 16 de mayo de 2023, de <http://scielo.sld.cu/pdf/ms/v16n5/ms12516.pdf>
- Renna, M., De Cillis, F., Leoni, B., Acciardi, E., & Santamaria, P. (2020). From by-Product to Unconventional Vegetable: Preliminary Evaluation of Fresh Fava Hulls Highlights Richness in L-Dopa and Low Content of Anti-Nutritional Factor. *Foods*, 9(2), 159. Recuperado el 10 de junio de 2023, de [doi:10.3390/foods9020159](https://doi.org/10.3390/foods9020159)
- Rodriguez-Amaya D. B. (1999). Changes in carotenoids during processing and storage of foods. *Archivos latinoamericanos de nutricion*, 49(3 Suppl 1), 38S–47S. Recuperado el 25 de junio de 2023.
- Ryden, P., & Selvendran, R. R. (1990). Cell-wall polysaccharides and glycoproteins of parenchymatous tissues of runner bean (*Phaseolus coccineus*). *Biochemical Journal*, 269(2), 393-402. Recuperado el 7 de junio de 2023, de [doi:10.1042/bj2690393](https://doi.org/10.1042/bj2690393)
- Sánchez-Mata, M., Cámara, M., Díez-Marqués, C., & Torija-Isasa, M. E. (2000). Comparison of high-performance liquid chromatography and spectrofluorimetry for vitamin C analysis of green beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *European Food Research and Technology*, 210(3), 220-225. Recuperado el 17 de junio de 2023, de [doi:10.1007/pl00005516](https://doi.org/10.1007/pl00005516)
- Sánchez-Moreno, C., Plaza, L., De Ancos, B., & Cano, M. (2003). Vitamin C, provitamin A carotenoids, and other carotenoids in high-pressurized orange juice during refrigerated storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(3), 647-653. Recuperado el 30 de mayo de 2023, de [doi:10.1021/jf020795o](https://doi.org/10.1021/jf020795o)
- Silva-Espinoza, M. A., García-Martínez, E., & Martínez-Navarrete, N. (2021). Protective capacity of gum Arabic, maltodextrin, different starches, and fibers on the bioactive compounds and antioxidant activity of an orange puree (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) against freeze-drying and in vitro digestion. *Food Chemistry*, 357, 129724. Recuperado el 17 de junio de 2023, de [doi:10.1016/j.foodchem.2021.129724](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129724)
- Soltero Sánchez, C. (2018). Inactivación de peroxidasa en brócoli (*Brassica oleracea* L.) empleando microondas [Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de Sinaloa]. Recuperado el 17 de junio de 2023.
- Steel, R., Ferris, G., & Hales, G. (1973). Frank Solomon Hansman. *The Medical journal of Australia*, 1(9), 460. Recuperado el 1 de junio de 2023, de [doi: 10.5694/j.1326-5377.1973.tb110486.x](https://doi.org/10.5694/j.1326-5377.1973.tb110486.x)
- Sun, J., Chu, Y., Wu, X., & Liu, R. (2002). Antioxidant and Antiproliferative Activities of Common Fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(25), 7449-7454. Recuperado el 26 de junio de 2023, de [doi:10.1021/jf0207530](https://doi.org/10.1021/jf0207530)

- Tamrat, W. (2019). Effect of Plant Density on Yield Components and Yield of Faba Bean (*Vicia Faba L.*) Varieties at Wolaita Sodo, Southern Ethiopia. *Journal of Natural Sciences Research*. Recuperado el 14 de mayo de 2023, de [doi: 10.7176/jnsr/9-5-07](https://doi.org/10.7176/jnsr/9-5-07)
- Tapia, C. I., Muñoz, M. E. S., & Fukalova, F. T. (2019). Efecto del sistema de deshidratación sobre el contenido de carotenoides extraídos de dos variedades del fruto de *Carica papaya*. *Infoanalítica* (Quito - Impresa). Recuperado el 6 de junio de 2023, de [doi:10.26807/ia.v7i1.94](https://doi.org/10.26807/ia.v7i1.94)
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K. M., Cisneros-Zevallos, L., & Byrne, D. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6-7), 669-675. Recuperado el 15 de junio de 2023, de [doi:10.1016/j.jfca.2006.01.003](https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.01.003)
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Byrne, D. H. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of food composition and analysis*, 19(6-7), 669-675. Recuperado el 21 de junio de 2023, de [doi:10.1016/j.jfca.2006.01.003](https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.01.003)
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Byrne, D. H. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of food composition and analysis*, 19(6-7), 669-675. Recuperado el 17 de junio de 2023.
- WAGNER, L. A., & WARTHESEN, J. J. (1995). Stability of spray-dried encapsulated carrot carotenes. *Journal of Food Science*, 60(5), 1048–1053. Recuperado el 7 de junio de 2023, de [doi:10.1111/j.1365-2621.1995.tb06290.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1995.tb06290.x)
- Zamora, A. J. (2018, 24 octubre). *Innofood*. Recuperado el 14 de mayo de 2023, de <https://www.innofood.es/revalorizacion-subproductos-economia-circular-sistemas-produccion-agroalimentarios/>