

UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ESCUELA DE PREGRADO

MEMORIA TÍTULO

**ANÁLISIS DE COMPUESTOS ANTIOXIDANTES
PRESENTES EN HABA (*Vicia faba* L.) PARA SU CONSUMO
HORTÍCOLA.**

EUGENIA STHEPANIE AGURTO ARIAS

**SANTIAGO - CHILE
2012**

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

MEMORIA TÍTULO

**ANÁLISIS DE COMPUESTOS ANTIOXIDANTES
PRESENTES EN HABA (*Vicia faba* L.) PARA SU CONSUMO
HORTÍCOLA.**

**ANALYSIS OF ANTIOXIDANT COMPOUNDS IN FABA
BEAN (*Vicia faba* L.) INTENDED FOR HORTICULTURE
CONSUMPTION.**

EUGENIA STHEPANIE AGURTO ARIAS

SANTIAGO, CHILE
2012

UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ESCUELA DE AGRONOMÍA

ANÁLISIS DE COMPUESTOS ANTIOXIDANTES PRESENTES EN HABA (*Vicia faba* L.) PARA SU CONSUMO HORTÍCOLA.

Memoria para optar al título profesional de:
Ingeniero Agrónomo
Mención: Fitotecnia

EUGENIA STHEPANIE AGURTO ARIAS

PROFESORES GUÍA	CALIFICACIONES
Sra. Cecilia Baginsky G. Ingeniero Agrónomo Dr.	6,8
Sr. Álvaro Peña N. Ingeniero Agrónomo, Enólogo, Dr.	6,7
PROFESORES EVALUADORES	
Sr. Claudio Pastenes V. Ingeniero Agrónomo, Ph Dr.	7,0
Sr. Elias Obreque S. Ingeniero Agrónomo, Dr.	6,7

Con todo mi amor a mi ***“Papito”***
El mejor padre del mundo...

AGRADECIMIENTOS

Como dejar de agradecer a todas aquellas personas que fueron, son y serán parte fundamental de este proceso.

A mi pequeña pero maravillosa familia, por la entrega, el amor, el sacrificio, la dedicación, el esfuerzo y el apoyo incondicional; mi infinita gratitud, admiración, respeto y amor a Manuel, mi padre, sin él no hubiera sido capaz de ser la mujer en la cual me he convertido. A Patricia, a mi prima Angélica, a mi hermana Alejandra y mis sobrinas.

A mis amados amigos, Rodrigo Escobedo, Javiera Fernández, Denise Leyton, Juan Pablo Lascani, Marcela Vidal, Esteban Arancibia, Javiera Suárez, Claudia Sánchez y Romina Sanhueza. Quienes son los ingredientes más importantes en la receta de mi vida. Gracias por su amor, paciencia, eterna compañía y por ser los mejores.

A los que partieron de mi vida, pero sólo de esta vida, Sonia Arias, Ester Torres y Luis Agurto, su ausencia me enseñó a apreciar y disfrutar cada segundo. Quiero dar gracias también a un excelente compañero de travesías, ya no está en mi camino, pero siempre lo estará en mi corazón, Marcelo Sanhueza.

A mi profesora guía la Sra. Cecilia Baginsky por sus conocimientos, consejos, valiosos juicios y enseñanzas. También mi profesor y amigo Alejandro Cáceres, sin él, esta memoria de título no sería real, gracias por la infinita ayuda, dedicación, consejos y por sobre todo, gracias por su amistad.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN.....	5
PALABRAS CLAVE	5
ABSTRACT	6
KEY WORDS	6
INTRODUCCIÓN	7
HIPÓTESIS	11
OBJETIVOS	11
MATERIALES Y MÉTODOS	12
MATERIALES	12
Ubicación	12
Clima.....	12
Cultivares	12
METODOLOGÍA	13
Tratamientos y diseño del experimento	13
Evaluaciones	15
Manejo del cultivo	17
Análisis estadístico.....	19
RESULTADOS.....	20
Condiciones climáticas de crecimiento.....	20
Composición química de los granos	20
Contenido de sólidos solubles.....	20
Taninos totales	22
Análisis individualizado de compuestos fenólicos	23
Variación del color en los granos.....	28
DISCUSIÓN	31
CONCLUSIONES	36
BIBLIOGRAFÍA	37

APÉNDICES.....42

ANEXOS47

ÍNDICE CUADROS

Cuadro 1. Cultivares y estados de desarrollo en los tratamientos evaluados	13
Cuadro 2. Cultivares evaluados en los tratamientos, distancias entre y sobre hileras por unidad experimental	14
Cuadro 3. Contenido promedio (mg L^{-1}) de compuestos fenólicos de bajo peso molecular encontrados en los tres cultivares evaluados.....	26
Cuadro 4. Variación de la luminosidad de los granos en los tres cultivares en relación a la humedad de cosecha	28
Cuadro 5. Valor de la diferencia total de color (ΔE) perceptible al ojo humano en los tres cultivares evaluados	30

ÍNDICE FIGURAS

Figura 1. Distribución y ubicación espacial de los tratamientos en terreno. C ₁ : 75-80% H°; C ₂ : 70-74% H°; C ₃ : 65-69% H°; R: repetición.....	14
Figura 2. Concentración de sólidos solubles medidos en porcentaje de sacarosa en los tres cultivares evaluados a medida que disminuye la humedad de los granos	21
Figura 3. Variación de los taninos totales medidos en mg L ⁻¹ de (-)-epicatequina en los tres cultivares evaluados a medida que disminuyó la humedad de los granos	22
Figura 4. Cromatograma patrón (280 nm) de un extracto de granos de haba del cultivar Luz de Otoño.....	24
Figura 5. Cromatograma patrón (280 nm) de un extracto de granos de haba del cultivar Verde Bonita	25
Figura 6. Cromatograma patrón (280 nm) de un extracto de granos de haba del cultivar Aguadulce	25
Figura 7. Variación de los parámetros de color a [*] , b [*] y C [*] en el cultivar Luz de Otoño evaluados a medida que disminuye la humedad de los granos	29

ANÁLISIS DE COMPUESTOS ANTIOXIDANTES PRESENTES EN HABA (*Vicia faba* L.) PARA SU CONSUMO HORTÍCOLA.

RESUMEN

Las enfermedades crónicas constituyen la primera causa de muerte en Chile y la evidencia actual demuestra que este tipo de patologías está asociada a daño de tipo oxidativo. Por ello, los compuestos antioxidantes han tomado un papel primordial en nuestra alimentación.

El presente estudio se efectuó con el objeto de evaluar la composición y concentración de compuestos antioxidantes presentes en tres cultivares de haba (*Vicia faba* L.) para consumo hortícola y determinar, en función de la humedad del grano, la variación en la concentración y composición de estos compuestos en tres estados de humedad. Para ello, se realizó un ensayo entre Junio y Diciembre del año 2010 en la Estación Experimental Antumapu, el cual contó con nueve tratamientos, que contemplaron la evaluación de tres cultivares de habas (Luz de Otoño, Verde Bonita y Aguadulce) cosechadas en tres estados de madurez de los granos (medidos en función del porcentaje de humedad). Al alcanzar la humedad requerida en los granos, según el tratamiento, se evaluaron los sólidos solubles, color de la testa, taninos totales y fenoles de bajo peso molecular.

Los resultados obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANDEVA) y en aquellos casos en que se obtuvo diferencias significativas, se realizó una prueba de comparación múltiple de Tukey.

De acuerdo a los principales resultados se puede señalar que el contenido de sólidos solubles aumentó a medida que disminuyó la humedad en los granos de los tres cultivares evaluados, obteniendo el cultivar Aguadulce (10,2 °Brix) el mayor contenido durante el estado de menor humedad. Respecto a los parámetros de color a^* , b^* , C^* y h° en los cultivares Verde Bonita y Aguadulce no presentaron cambios a medida que disminuyó la humedad, en cambio en el cultivar Luz de Otoño los granos se volvieron menos verdes y más opacos. La concentración de taninos totales fue diferente para cada cultivar y cada estado de humedad del grano, destacándose el cultivar Verde Bonita entre los 74-65% de humedad que presentó la mayor concentración en mg L^{-1} de (-)-epicatequina. Los tres cultivares de haba evaluados presentaron compuestos fenólicos de bajo peso molecular, existiendo diferencias entre cultivares solo a nivel de concentración, dado que la composición fue la misma. Además se observó un descenso de estos compuestos a medida que disminuyó la humedad de los granos.

Palabras clave

Compuestos Fenólicos, taninos, *Vicia faba*

ANALYSIS OF ANTIOXIDANT COMPOUNDS IN FABA BEAN (*Vicia faba*L.)
INTENDED FOR HORTICULTURE CONSUMPTION.

ABSTRACT

Chronic diseases are the main cause of death in Chile, and the actual evidence shows that this type of pathologies are associated with oxidative damage, for this reason the antioxidant compounds have an important role in our diet.

This study was performed with the purpose to evaluate the composition and concentration of antioxidant compounds presents in three cultivars of Faba bean (*Vicia faba* L.), “Luz de Otoño”, “Aguadulce” y “Verde Bonita” for horticultural consumption, and to determine, depending on the moisture of the grain, the variation in concentration and composition of low molecular weight phenols and tannins, for three maturity stages. The assay was conducted between June and December of 2010 in “Antumapu” Experimental Station, which consisted of nine treatments, that contemplated the evaluation of three cultivars of beans harvested in three stages of maturity of the grains (measured depending on the percentage of moisture). When required moisture level in grains was reached, according to the treatment, soluble solids, color of the grain, total tannins and low molecular weight phenols were evaluated.

Results were analyzed with analysis of variance (ANOVA), and Tukey’s multiple range test was used to establish differences among treatments.

It is possible to indicate that the soluble solids content increases as the moisture level in grains decreases in the three cultivars evaluated and the cultivar “Aguadulce” obtained the highest content (10.2 °Brix), in the state of lower moisture. The color parameters a^* , b^* , C^* and h° in cultivars “Verde Bonita” and “Aguadulce” had no change as moisture level decreased, whereas in “Luz de Otoño” grains became less green and more opaque.

Total concentration of tannins was different for each cultivar and each grain moisture level, highlighting “Verde Bonita” between 74-65% humidity, which presented the highest concentration of (-)-epicatechin expressed in mg L^{-1} . The three faba bean cultivars evaluated presented low molecular weight phenolic compounds, showing differences between cultivars only in terms of concentration, and not in composition. A decrease of these compounds was observed as grain moisture decreased.

Key words

Phenolic compounds, tannins, *Vicia faba*

INTRODUCCIÓN

En Chile al igual que la mayoría de los países desarrollados, las enfermedades crónicas constituyen la primera causa de muerte. En contraste con las enfermedades infecciosas, las enfermedades crónicas dependen de diversos factores y entre ellos la alimentación, es uno de los factores más significativos (Rosso, 2001).

En la actualidad gran parte de la sociedad chilena se ha ido alejando de su cultura gastronómica para ir adoptando patrones de alimentación, basados en gran ingesta de grasa, azúcar y proteína animal, lo que ha contribuido al aumento de patologías relacionadas con la nutrición, entre ellos: obesidad, síndromes metabólicos como la diabetes, enfermedades cardiovasculares e hipertensión arterial (Carvajal y Ortega, 2001). Sumado a lo anterior, los alimentos que tradicionalmente se han consumido están siendo objeto de investigación debido a la evidencia de que una alimentación sana es uno de los pilares de la salud. De este modo, tanto a nivel nacional como internacional se llevan a cabo numerosos estudios tendientes a buscar propiedades y compuestos fitoquímicos que están en los alimentos y que benefician de manera importante la salud del ser humano. Una muestra de esta afirmación, es el descubrimiento del rol esencial para la salud humana, que tienen los antioxidantes presentes en diversos alimentos, estos compuestos contribuyen en el control de reacciones oxidativas y ofrecen protección *in vivo* contra los radicales libres productores del daño oxidativo (Leighton *et al.*, 1997).

Los radicales libres son especies químicas, que, en su estructura atómica presentan uno o más electrones desapareados en el orbital externo, por lo que su configuración espacial es inestable, y por lo tanto son muy reactivos, provocando daño celular oxidativo. Este hecho se debe a que interactúan con las principales biomoléculas del organismo tales como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos (Venereo, 2002), causando algunas enfermedades degenerativas irreversibles (Carvajal y Ortega, 2001). Entre las numerosas patologías asociadas a estrés oxidativo, están las dos principales causas de muerte en países desarrollados, tales como la arteriosclerosis y el cáncer. Lo mismo ocurre con las complicaciones de otras condiciones patológicas como artritis, nefropatías y el proceso biológico del envejecimiento, que se aceleran en función de la magnitud del estrés oxidativo al que están sometidos organismos de muy diferentes especies (Sohal y Weindruch, 1996).

El sistema de defensa antioxidante de diferentes organismos está constituido por un grupo de sustancias que, al estar presentes retrasan o previenen significativamente la oxidación e impiden que otras moléculas se unan al oxígeno al reaccionar e interactuar más rápido con los radicales libres (Venereo, 2002). Estas defensas antioxidantes en los organismos aeróbicos son de tipo enzimático y no enzimático. La primera defensa antioxidante es intracelular y es principalmente de tipo enzimático siendo, la catalasa, la superóxido dismutasa y la glutatión peroxidasa las enzimas más importantes. La segunda barrera antioxidante de tipo no enzimática está dada por compuestos antioxidantes que actúan tanto a nivel celular como extracelular. Esta segunda defensa antioxidante está formada por distintos compuestos, endógenos y exógenos. A diferencia de las enzimas antioxidantes, las sustancias antioxidantes se modifican al

reaccionar con los radicales libres y necesitan ser reemplazados puesto que se consumen en el proceso. Algunas sustancias de origen endógeno son glutatión, urato, ubiquinol y proteínas plasmáticas, las cuales son reemplazadas por síntesis. Si son de origen exógeno, es decir, provenientes de la dieta, para ser reemplazadas necesitan ser nuevamente ingeridas en ésta. Algunos de estos compuestos antioxidantes están bien establecidos como por ejemplo: vitamina C, vitamina E y carotenoides, y otros particularmente estudiados en la actualidad como los polifenoles (Leighton *et al.*, 1999).

Los compuestos fenólicos proceden del metabolismo secundario de las plantas superiores, es decir, los hidratos de carbono fotosintetizados por las plantas son posteriormente degradados para producir la energía que necesitan, pero una pequeña parte de ellos se utiliza para sintetizar un gran número de compuestos entre los que se encuentran los compuestos fenólicos, que tienen a los ácidos acético y siquímico como principales precursores (Ribereau-Gayon, 1968, citado por Peña, 1998). Este gran grupo de compuestos están presentes ampliamente en la naturaleza y se caracterizan por poseer anillos aromáticos con sustituyentes hidroxilos. En su mayoría son potentes antioxidantes necesarios para el funcionamiento de las células vegetales, encontrándose en frutas, verduras, leguminosas y en bebidas como té y vino (Kinsella *et al.*, 1993).

Dentro de los compuestos fenólicos, los flavonoides: flavonoles y flavanoles (taninos condensados) constituyen uno de los grupos más comunes, ampliamente distribuidos y con un alto potencial antioxidante (Cortés, 2000). Sin embargo, el organismo humano no puede producir estas sustancias químicas protectoras, por lo que deben obtenerse mediante la alimentación (Matínez-Flórez, 2002).

Diversos estudios como los de Carratu y Sanzini, (2005) han demostrado la existencia de taninos presentes en la testa de algunas leguminosas. Estos compuestos le confieren actividad antioxidante a los granos y un papel importante en su sistema de defensa frente a daño causado por factores ambientales tales como la luz, el oxígeno, los radicales libres e iones metálicos. Estos compuestos han recibido especial atención debido a que su consumo produce una serie de beneficios para la salud, entre ellos: detoxificación enzimática, estimulación del sistema inmune, disminución de la agregación plaquetaria, modulación del metabolismo hormonal, reducción de la presión arterial y una actividad antibacteriana y antiviral (Carratú y Sanzini, 2005). Amarowicz *et al.* (2004) señalan que los taninos tienen un potencial anticancerígeno, antimutagénico y propiedades antimicrobianas y Hagerman *et al.* (1998) afirman que los taninos son 15 a 30 veces más eficaces en la extinción de radicales peroxilo que los fenoles simples. Por lo tanto, según estos autores los taninos deben ser considerados como antioxidantes biológicos importantes.

Los granos de leguminosas cumplen un rol primordial para la nutrición humana, puesto que se caracterizan por un elevado contenido proteico, además son una excelente fuente de hidratos de carbono de digestión y asimilación lenta, fibra soluble, micronutrientes como vitaminas y minerales (calcio, hierro, magnesio, fósforo y zinc), y algunos componentes bioactivos minoritarios como ácido fólico, ascórbico, fítico y pantoténico, inhibidores de proteasas y saponinas, junto con un bajo contenido en grasa (Olmedilla *et al.*, 2010). Es así como Aykroyd *et al.* (1982) indican que el ser humano, para lograr una dieta balanceada, requiere una ingesta diaria de al menos 50 g de semilla de leguminosas. Este grupo de plantas constituyen la principal fuente proteica en muchos países en desarrollo, en especial entre los grupos poblacionales más pobres, que

obtienen las proteínas y la energía de fuentes vegetales, por lo que son clave en la seguridad nutricional de grandes grupos humanos (Olmedilla *et al.*, 2010).

Amarowicz y Ronald (2008) indican que la capacidad antioxidante de las leguminosas de grano depende de la diversidad biológica de la especie; y por lo tanto, la variabilidad en el contenido de compuestos fenólicos a nivel de genotipos podría ser útil al momento de seleccionar aquellos que presenten un alto porcentaje de estos compuestos en sus granos. Este hecho podría adquirir mayor importancia cuando se utilicen estos granos en la fabricación de alimentos funcionales y promover la salud de los consumidores.

Estudios realizados en haba (*Vicia faba* L.) para consumo en grano seco, indican la presencia de un perfil polifenólico diferente entre los cotiledones y la testa de las semillas estudiadas (Bartolomé *et al.*, 1997 citado por Troszynska y Ciska, 2002; Amarowicz *et al.*, 2004) existiendo, además, variaciones en el contenido de taninos en función del color de la testa (Elias *et al.*, 1979). Este hecho estaría asociado a una alta actividad antioxidante en el grano; sin embargo, esta característica no se ha medido en haba para consumo de grano verde, en donde los granos presentan entre un 70-74% de humedad y la testa presenta un color verde, ya que el color final se manifiesta una vez que la semilla llega a su madurez fisiológica.

Estudios preliminares llevados a cabo en la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile, indican la presencia de taninos y polifenoles como la quercetina y procianidinas en granos enteros cosechados en verde¹; sin embargo, este estudio se realizó con muestras de habas cosechadas en un solo estado de madurez, no existiendo antecedentes de cómo varían estos compuestos en granos cosechados en distintos estados de madurez.

Cabe destacar que en nuestro país, el inicio de las labores de cosecha en haba está determinado básicamente por inspección visual, considerando longitud de vainas, tamaño y sabor de los granos, dureza (grado tenderométrico) más que por su aporte nutricional (Faiguenbaum, 2003) o como un potencial alimento funcional o antioxidante.

Según Baginsky (2008), dependiendo del estado de desarrollo en que se encuentre el grano y su contenido de humedad, sus atributos van variando, como por ejemplo, granos cosechados con una humedad inferior a la óptima (menor al 70% de humedad) manifiestan cambios en el dulzor (menor porcentaje de agua) y un aumento en la dureza de la testa, lo que provoca un menor nivel de aceptabilidad por parte del consumidor. En este sentido muchas veces en Chile se privilegia el rendimiento más que la calidad del grano, cosechándose granos sobre maduros.

En Chile, a diferencia de lo que ocurre a nivel mundial, el haba se cultiva principalmente como una especie hortícola aprovechando sus semillas inmaduras las que pueden ser consumidas en fresco o para la elaboración de producto congelado; sólo una muy pequeña superficie se destina para grano seco, principalmente para alimentación animal. Durante mucho tiempo este cultivo fue considerado como una hortaliza secundaria; no obstante su importancia ha ido en aumento observándose una superficie promedio de 2.300 hectáreas (ODEPA, 2011). A inicios de la década de los 90 el cultivo tuvo un alza importante en el aumento de su superficie debido a la entrada

¹ Peña, A. Dr. Ing. Agrónomo. Profesor asistente Universidad de Chile. 2010 (Comunicación personal).

al mercado del producto congelado, observándose que, en promedio, cerca del 30% de la superficie total se destina a este producto, tanto para consumo interno como para exportación. Este hecho además, le ha otorgado al cultivo un mayor nivel de tecnificación (Faiguenbaum, 2003).

Dentro del grupo de las leguminosas de grano sembradas a nivel nacional el haba es una buena opción de cultivo otoñal e invernal para la rotación hortícola, puesto que según Nadal *et al.*, (2005) es una especie que se adapta bien a climas frescos con alta humedad relativa y de bajas temperaturas; además presenta una buena adaptación a suelos poco favorables (bajo contenido de materia orgánica principalmente) y su notable capacidad de asociarse simbióticamente a la bacteria del género *Rhizobium*, fijando nitrógeno atmosférico. Todo esto proporciona una importante alternativa en variadas zonas de nuestro país.

Frente a este escenario y tal como se indicara anteriormente, en Chile no se ha determinado cómo podría afectarse la calidad funcional de los granos, en función de su madurez de cosecha². Existe muy poca información disponible en la literatura con respecto a los diferentes compuestos fenólicos presentes en habas para consumo de grano seco y prácticamente ninguna información respecto a su consumo hortícola. Tampoco hay estudios que determinen como varían estas características en función de los genotipos utilizados.

Por lo tanto, en base a los antecedentes antes descritos se ha planteado la siguiente hipótesis.

²Baginsky, C. Dr. Ing. Agrónomo. Profesor asistente Universidad de Chile. 2010 (Comunicación personal).

Hipótesis

Existe variabilidad entre cultivares de haba en la composición y concentración de compuestos fenólicos en granos cosechados al estado inmaduro (consumo hortícola), acentuándose esta variabilidad según el estado de desarrollo del grano.

Objetivos

Evaluar la composición y concentración de compuestos fenólicos presentes en tres cultivares de haba para consumo hortícola.

Determinar, en función de la madurez del grano, la concentración y composición de fenoles de bajo peso molecular y taninos, en haba para consumo hortícola.

Determinar los cambios en color y sólidos solubles de tres cultivares de haba, en función del contenido de humedad del grano.

MATERIALES Y MÉTODO

Materiales

- **Ubicación**

El presente estudio se realizó entre los meses de Junio a Diciembre del año 2010, en la Estación Experimental Antumapu, perteneciente a la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile, ubicada en la comuna de La Pintana, Santiago de Chile (33° 34' Latitud Sur y 70° 38' Latitud Oeste). Sus suelos pertenecen a la serie cartográfica Santiago y se caracterizan por ser de origen aluvial, ligeramente profundos, de textura franco arenosa, con un buen drenaje y una pendiente que fluctúa entre 0 y 1% (CIREN, 1996).

- **Clima**

El sector presenta un clima de tipo templado mesotermal estenotérmico mediterráneo semiárido cuyo régimen térmico se caracteriza por temperaturas que varían, en promedio, entre una máxima en Enero de 28,2 °C y una mínima en Julio de 4,4 °C. Con un período libre de heladas de 231 días. El régimen hídrico observa una precipitación media anual de 419 mm, un déficit hídrico de 997 mm y un período seco de ocho meses. Por la ubicación del distrito el régimen térmico se caracteriza por veranos secos y calurosos e inviernos fríos (Atlas Agroclimatológico de Chile, 1990).

- **Cultivares**

En el estudio se utilizaron cultivares de *Vicia faba* L. pertenecientes a la variedad botánica *Major*, siendo esta la más utilizada para consumo hortícola a nivel mundial (Faiguenbaum, 2003). Se evaluaron tres cultivares: Luz de Otoño y Aguadulce de hábito de crecimiento indeterminado procedentes del mercado chileno y el cultivar Verde Bonita de hábito de crecimiento determinado, proveniente del Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera, Alameda del Obispo (IFAPA), Córdoba, España.

Metodología

Tratamientos y diseño del experimento

El ensayo, llevado a cabo en campo, contó con nueve tratamientos, que contemplaron la evaluación de tres cultivares de habas cosechadas en tres estados de madurez de los granos (medidos en función del % de humedad). En el Cuadro 1, se presenta un resumen de ellos. Los tratamientos fueron dispuestos en un diseño experimental de Parcelas Divididas al Azar con Arreglo Factorial. Cada tratamiento quedó conformado por cinco repeticiones; sin embargo en las evaluaciones sólo se consideraron tres repeticiones, porque el cultivo, durante su desarrollo, sufrió un ataque severo de *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., afectando el crecimiento y la producción de vainas, motivo por el cual esas repeticiones no fueron consideradas.

Cuadro 1. Cultivares y estados de desarrollo en los tratamientos evaluados

Tratamiento	Cultivar	Estado de desarrollo (% de humedad)	Nº de Cosecha	Fecha
T ₁	Luz de Otoño	70 – 74	C ₁	04 Noviembre
T ₂	Luz de Otoño	65 – 69	C ₂	11 Noviembre
T ₃	Luz de Otoño	60 – 64	C ₃	15 Noviembre
T ₄	Verde Bonita	70 – 74	C ₁	04 Noviembre
T ₅	Verde Bonita	65 – 69	C ₂	11 Noviembre
T ₆	Verde Bonita	60 – 64	C ₃	15 Noviembre
T ₇	Aguadulce	70 – 74	C ₁	04 Noviembre
T ₈	Aguadulce	65 – 69	C ₂	11 Noviembre
T ₉	Aguadulce	60 – 64	C ₃	15 Noviembre

Se estableció una parcela principal de 567 m² donde cada unidad experimental presentó una superficie de 36 m² para el caso de los cultivares indeterminados y de 22,5 m² para el cultivar determinado. Cada unidad experimental constó con 12 hileras de 5 metros de largo para los cultivares indeterminados y 9 hileras de 5 metros de largo para el cultivar determinado; la distancia entre y sobre hilera para cada cultivar se presenta en el Cuadro 2. Además en la Figura 1 se puede observar un esquema de la distribución del ensayo en terreno.

Cuadro 2. Cultivares evaluados en los tratamientos, distancias entre y sobre hileras por unidad experimental y densidad de plantas por hectárea.

Cultivar	Distancia sobre hilera	Distancia entre hilera	Densidad de población (Plantas ha ⁻¹)
	cm		
Luz de otoño	28	60	58.100
Agua dulce	25	60	66.400
Verde Bonita	10	50	200.000

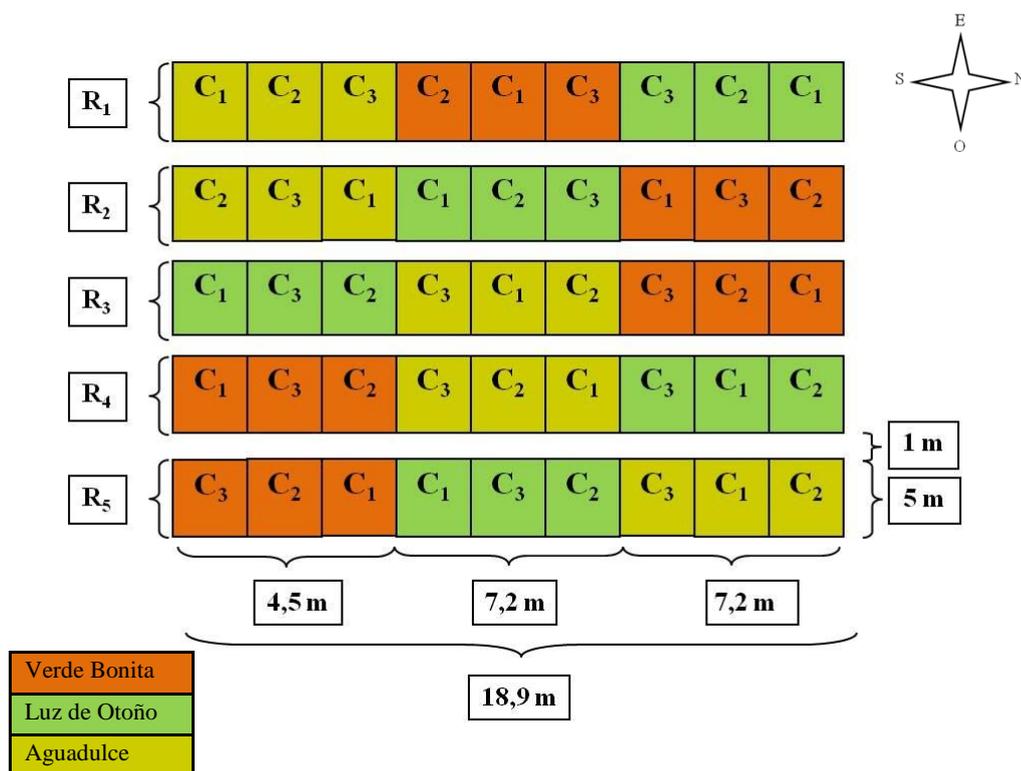


Figura 1. Distribución y ubicación espacial de los tratamientos en terreno. C₁: 75-80% H°; C₂: 70-74% H°; C₃: 65-69% H°; R: repetición.

Establecimiento de los tratamientos:

- Una vez que las plantas llegaron al estado de inicio de floración se monitoreó visualmente el avance en el desarrollo de las estructuras reproductivas en los nudos superiores. Una vez que las flores de las inflorescencias del cuarto nudo se encontraron totalmente abiertas, se marcó el nudo más próximo a ella con el objetivo de identificarla. Por cada unidad experimental se marcó un total de 50 inflorescencias, ubicadas en el eje central de las plantas.
- Con el objetivo de determinar la humedad requerida para cada tratamiento, se muestrearon en forma periódica 10 vainas por unidad experimental al inicio del

llenado de granos y luego cada dos días cuando la humedad se encontraba cercana a la requerida, según tratamiento.

3. El porcentaje de humedad se evaluó en función del peso fresco y peso seco de los granos. Al cosechar los granos se registró su peso fresco y posterior a esto fueron puestos en estufa con aire forzado a 70 °C por 48 horas para medir su peso seco (Apéndice I). El porcentaje de humedad se calculó en función de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Humedad} = [(\text{Peso fresco} - \text{Peso seco})/\text{Peso fresco}] * 100$$

Evaluaciones

Al alcanzar la humedad requerida en los granos según el tratamiento, se cosecharon 15 vainas por unidad experimental, seleccionando la de mayor tamaño dentro de cada inflorescencia. Las vainas se repartieron en partes iguales para cada evaluación: 5 vainas para medición de color, 5 para sólidos solubles y 5 para el análisis de taninos y fenoles de bajo peso molecular.

Las vainas fueron cosechadas desde las 8:30 - 10:00 am y se transportaron inmediatamente en una cámara de frío al laboratorio donde se evaluó:

Sólidos solubles por refractometría: Estos se determinaron a los granos con un refractómetro marca Atago (escala de 0-30°), y los resultados se expresaron en grados Brix según Sepúlveda, (1998).

Color: Se utilizó el sistema CIELab (Comision Internationale de L'Eclairage), utilizando las coordenadas L^* (luminosidad), a^* (intensidad de verde a rojo), b^* (intensidad de amarillo a azul), con una fuente lumínica D_{65} y ángulo de observador de 2° (Sepúlveda, 1998). Para ello se utilizó un colorímetro triestímulo marca Minolta, modelo CR300. Además se calculó h° (tono), que fue calculado como el arcotangente de (b^*/a^*) en grados, C^* (croma), que fue calculado mediante la expresión $[(a^{*2} + b^{*2})]^{1/2}$ (McGuire, 1992) y la diferencia de color total $\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$ (Pérez-Magariño and González-Sanjosed, 2003). En el Anexo II, se muestra la representación del sólido de color para el espacio de color L^* , a^* y b^* .

Contenido de taninos totales y fenoles de bajo peso molecular: Para la evaluación de ambos parámetros, las muestras fueron previamente acondicionadas, según el siguiente protocolo:

1. Se desgranaron las cinco vainas provenientes de cada unidad experimental y se seleccionaron al azar 10 g de granos enteros.
2. Los granos seleccionados fueron triturados con una licuadora de mano marca Braun modelo Minipimer MR-4000, en 100 mL de solución hidroalcohólica (Metanol/agua, 80:20 v/v).

3. Se ajustó el pH de la solución a 3,6.
4. La solución debidamente homogenizada se trasladó a un matraz erlenmeyer de 250 mL de capacidad, tapado y protegido de la luz en su exterior con papel aluminio y se agitó por 2 horas con un agitador magnético.
5. Terminada la agitación, se separó la fase sólida de la líquida mediante un tamiz y las partes sólidas se maceraron nuevamente con un total de 2 extracciones.
6. Las fases líquidas recogidas en ambas oportunidades se homogenizaron y se trasladaron a tubos Falcon de 50 mL y se llevaron a centrifugación por 20 minutos a 3500 revoluciones por minuto.
7. La solución final se filtró al vacío utilizando filtros de celulosa de 0,45 μm .
8. La solución obtenida fue utilizada para la medición espectrofotométrica y HPLC.

Los taninos totales fueron medidos en un espectrofotómetro marca Shimadzu modelo UV-1700 de acuerdo al siguiente protocolo descrito por Mercurio *et al.* (2007).

1. Preparación de la muestra: En un tubo Falcon de 15 mL se agregó 1 mL de extracto de la muestra más 3 mL de la solución de metilcelulosa al 0.04% p/v; se agitó y dejó reposar durante 3 minutos. Posteriormente se agregaron 2 mL de solución saturada de sulfato de amonio (43,47 g en 100 mL de agua desionizada) y se llevó al volumen final (10 mL) con agua desionizada.
2. Se mezcló y dejó reposar por 10 minutos a temperatura ambiente. Se centrifugó por 20 minutos a 3.500 revoluciones por minuto.
3. Preparación de la muestra control: Se repitieron los pasos anteriores omitiendo la adición de metilcelulosa a la solución contenedora de taninos.
4. Se midió la absorbancia a 280 nm de la muestra tratamiento y de la muestra control.

La cuantificación se realizó utilizando una curva de calibración con (-)-epicatequina, dando como resultados valores en mg (-)-epicatequina L⁻¹ equivalente.

Fenoles de bajo peso molecular Se determinó mediante técnicas de individualización por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC-DAD) (Peña *et al.*, 1999), utilizando un cromatógrafo marca Agilent modelo 1100 serie con: un desgasificador Agilent modelo G1379A, una bomba cuaternaria Agilent modelo G1311A, un detector de diodos alineados (DAD) Agilent modelo G1315B y un Inyector (Autosampler) modelo G1313A, usando una columna Nova-Pak (Waters) C₁₈, 4 μm , 3,9 (D.I.) x 300 mm. Para la extracción se utilizó el método propuesto y modificado por Peña (1998)³. Los compuestos fenólicos fueron posteriormente identificados mediante su espectro de absorción y tiempo de retención. La cuantificación de los compuestos fenólicos, se

³Peña, A. Dr. Ing. Agrónomo. Profesor asistente Universidad de Chile. 2010 (Comunicación personal)

realizó determinando la concentración de cada uno y comparándola con una curva de calibración.

Además, y, a partir de datos climáticos registrados por la Estación Meteorológica La Platina, INIA, se calculó la acumulación de días grados requeridos para alcanzar las diferentes etapas de desarrollo, mediante la fórmula propuesta por Arnold (1980), utilizando para ello los registros de temperatura y considerando una temperatura umbral del crecimiento para el haba de 0 °C (Patrick and Stoddard, 2010). Se contó además con el registro de precipitaciones y presencia de heladas durante la temporada en estudio (Apéndice II).

$$U.C. = \frac{T_{m\acute{a}x} + T_{m\acute{i}n}}{2} - 0^{\circ}C$$

U.C. = Unidades Calóricas

T° máx = Temperatura máxima diaria

T° mín = Temperatura mínima diaria

0 °C = Temperatura umbral de crecimiento para el haba (Patrick and Stoddard, 2010)

Manejo del cultivo

Preparación del suelo. La preparación del suelo se inició mediante una aradura y culminó con dos rastrajes, dejando el suelo con un nivel de mullimiento óptimo para la siembra.

Fertilización. Las dosis necesarias de fósforo (P) y potasio (K) para el cultivo se determinaron a través de un análisis de suelo (Anexo I). La dosis de nitrógeno (N) se determinó en función del análisis de suelo, pero, además considerando que un 75% de la demanda bruta del nutriente es aportado por la fijación simbiótica. Durante el último rastraje se incorporó al voleo el equivalente a 60 kg ha⁻¹ de P₂O₅ y K₂O en forma de súperfosfato triple y muriato de potasio, respectivamente. Del mismo modo se aplicaron 75 kg ha⁻¹ de N, utilizándose urea como fertilizante. Esta aplicación se realizó en base a un rendimiento esperado de 15 ton ha⁻¹.

Siembra. Previo a la siembra y con el objetivo de optimizar la fijación de nitrógeno las semillas fueron inoculadas con *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* (250 g de inoculante y 40 g de adherente por cada 50 kg de semilla).

La siembra se llevó a cabo en forma manual el día 10 de Junio de 2010, depositándose una semilla por golpe a una profundidad de 4-6 cm aproximadamente. En función de la distancia entre y sobre hilera a la cual fueron depositadas las semillas (Cuadro 2), las

densidades fueron de 21.164, 39.682 y 19.047 plantas ha⁻¹ para Aguadulce, Verde Bonita y Luz de Otoño, respectivamente.

Riego. El sistema de riego fue por surcos y su frecuencia fue determinada en función de la humedad del suelo, la que se monitoreo con un barreno midiendo entre 20 y 30 cm de profundidad (nivel donde se concentra la mayor proporción de raíces).

En total se realizaron cinco riegos, los que se llevaron a cabo entre los meses de septiembre a octubre, período durante el cual el abastecimiento hídrico por parte de las precipitaciones fue prácticamente nulo (Apéndice II).

Control de malezas. Las malezas fueron controladas en forma química y mecánico-manual. El tratamiento herbicida contempló dos productos de pre-emergencia correspondientes a Pendimethalin y Linuron en dosis de 3 L ha⁻¹ y 1 L ha⁻¹ de los productos comerciales, respectivamente. Esta aplicación se realizó al día siguiente de la siembra y permitió tener el cultivo limpio durante los primeros estados de desarrollo. Durante el período posterior y en forma periódica las malezas fueron controladas con azadón y/o en forma manual. De esta forma el cultivo se mantuvo libre de malezas durante todo su desarrollo. Las principales especies presentes fueron: *Cynodon dactylon* (Chépica), *Brassica sp.* (Brasicas), *Sorghum halepense* (Maicillo), *Urtica urens* (Ortiga), *Convolvulus arvensis* L. (Correhuela).

Plagas y enfermedades. Se efectuaron cuatro aplicaciones de producto químicos al cultivo, dos correspondientes a Rovral en dosis de 60 g ha⁻¹ en 300 L ha⁻¹ para controlar *Botrytis fabae* (Mancha chocolatada).

Además se aplicaron los insecticidas Lorsban 4E (7 Septiembre) en dosis de 1 L ha⁻¹ y Mospilán (22 Septiembre) en dosis de 70 g ha⁻¹ en 100 L ha⁻¹ contra el minador de las chacras (*Liriomyza huidobrensis*) y el pulgón del haba (*Aphis fabae*), respectivamente. Todas las aplicaciones se realizaron en forma manual con motobomba de espalda. Durante su desarrollo el cultivo sufrió un ataque de *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. que comprometió los dos últimos bloques del ensayo, no existiendo control curativo para este agente patógeno.

Análisis estadístico.

Los resultados obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANDEVA) con el fin de detectar posibles diferencias entre los tratamientos. En aquellos casos en que se obtuvieron diferencias significativas, se realizó una prueba de de comparación múltiple de Tukey, con un nivel de significancia menor o igual al 5% ($p \leq 0,05$). Cuando se presentaron interacciones entre los factores se analizaron las diferencias entre las humedades para cada cultivar por separado. En cada cultivar para analizar la incidencia de cada humedad en las variedades se evaluó cuando fue de interés para el estudio. Los análisis se realizaron con el programa estadístico STATGRAPHICS plus versión 5.1.

RESULTADOS

Condiciones climáticas de crecimiento

El cultivo fue establecido entre los meses de Junio y Noviembre del 2010, y durante la etapa vegetativa se desarrolló con temperaturas promedio de 8,3 °C, lo que está dentro del rango óptimo para esta etapa de crecimiento en la especie. Las temperaturas más bajas se registraron en el mes de Julio (temperaturas entre -0,4 y -2,3 °C), en tanto que las heladas se concentraron entre los meses de Junio y Agosto, coincidiendo estos eventos durante la etapa vegetativa (Apéndice II). Posteriormente durante la etapa reproductiva las temperaturas ascendieron, observándose un promedio de 14,3 °C durante este estado de desarrollo, temperatura considerada óptima para esta especie. Las plantas finalmente acumularon en promedio un total de 1.737,5 unidades calóricas, correspondiendo 729 al desarrollo de la etapa vegetativa y 1.008,5 a la reproductiva.

Los antecedentes entregados anteriormente estarían indicando que el cultivo creció en óptimas condiciones climáticas según lo indicado por Faiguenbaum, (2003) y Confalone, (2008)

Composición química de los granos

Los distintos compuestos químicos fueron evaluados en granos de haba provenientes de vainas ubicadas en el cuarto nudo reproductivo del eje principal. Este hecho obedece a que, los primeros nudos, que son de mayor producción, normalmente absciden sus flores por diferentes razones (luz, competencia por nutrientes, entre otros) (Monterroso and Wien, 1990).

Contenido de sólidos solubles

Los sólidos solubles están constituidos principalmente por azúcares, ácidos orgánicos, vitaminas, aminoácidos e iones, presentes en el jugo celular de frutas y hortalizas. Como los azúcares ocupan la mayor parte de los sólidos solubles (90-95%) estos reflejan un valor bastante aproximado y útil como índice de contenido de sólidos solubles (Berger, 1991).

En la Figura 2 se puede observar la variación en el contenido de sólidos solubles en los cultivares, Luz de Otoño, Verde Bonita y Aguadulce, en los distintos estados de humedad de los granos. Los datos numéricos se presentan en el Apéndice III.

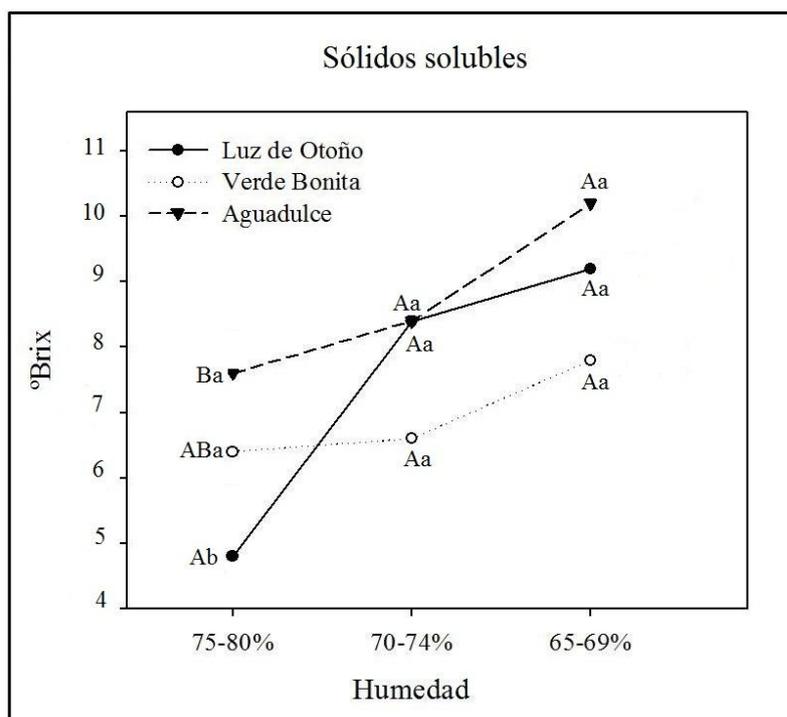


Figura 2. Contenido de sólidos solubles medidos en porcentaje de sacarosa en los cultivares Luz de Otoño, Aguadulce y Verde Bonita a medida que disminuye la humedad de los granos (Letras minúsculas distintas indican diferencia significativa entre humedades para un mismo cultivar, letras mayúsculas distintas indican diferencia significativa entre cultivares para una misma humedad, $p \leq 0,05$).

Se puede apreciar que el contenido de sólidos solubles aumentó a medida que disminuyó la humedad en los granos de los tres cultivares evaluados, sin embargo sólo se observaron diferencias significativas en el cultivar Luz de Otoño cuando presentó la mayor humedad en sus granos (75-80% de humedad). Este cultivar presentó un alza sustancial entre el primer y segundo estado de humedad (75% de aumento), llegando finalmente a un contenido de sólidos solubles de 9,2 °Brix (Figura 2, Apéndice III).

Además se puede observar que existen diferencias en el contenido de sólidos solubles entre los cultivares Aguadulce y Luz de Otoño, siendo estas diferencias significativas sólo durante el primer estado de humedad de los granos (75-80%).

Los cultivares Aguadulce y Verde Bonita no presentaron diferencias en la acumulación de sólidos solubles a medida que disminuyó la humedad de los granos, observándose que la acumulación fue bastante uniforme en los tres estados de madurez. Se debe destacar que Aguadulce presentó valores más altos que Verde Bonita en todos los estados de humedad evaluados, llegando a lograr un máximo de 10,2 °Brix durante el estado de menor humedad (65-69%), equivalente a un 31% mayor que Verde Bonita que presentó 7,8 °Brix (Figura 2, Apéndice III).

Taninos Totales

El parámetro taninos totales, otorga información acerca de la concentración global de taninos condensados presentes. Están presentes en frutos inmaduros y poseen una capacidad para unirse a macromoléculas como hidratos de carbono y proteínas (Venegas, 2010). Representan una compleja familia compuesta por las diferentes formas isoméricas de la (+)-catequina y sus polímeros que reciben el nombre de taninos condensados y corresponden a cadenas de diferente número de unidades de los diversos flavanoles monómeros mediante enlaces C₄-C₈ o C₄-C₆ (Zamora, 2003).

En la Figura 3 se presentan los resultados de la concentración de taninos totales pertenecientes a los tres cultivares que fueron evaluados en este ensayo.

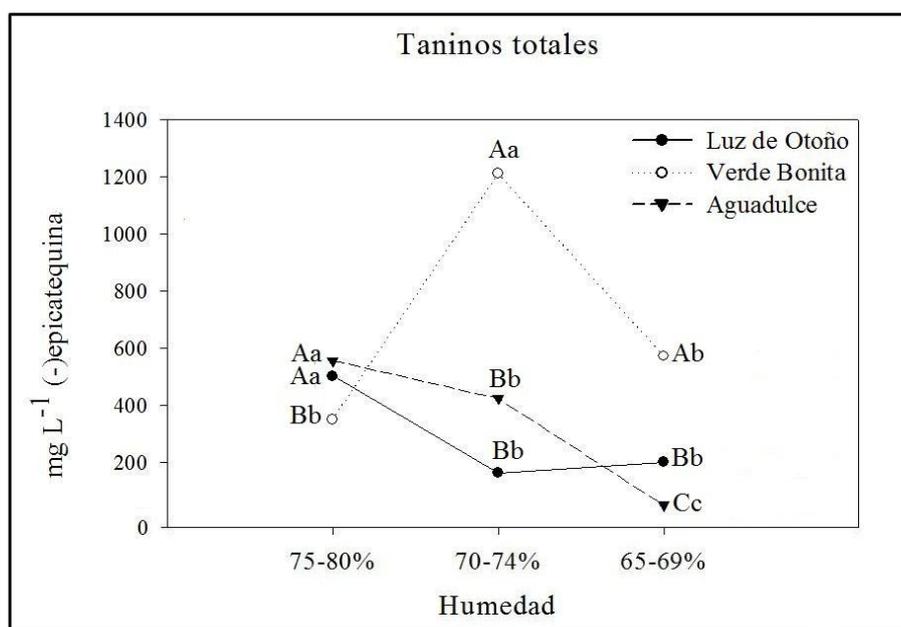


Figura 3. Variación de los taninos totales medidos en mg L⁻¹ de (-)-epicatequina en los tres cultivares evaluados a medida que disminuyó la humedad de los granos (Letras minúsculas distintas indican diferencia significativa entre humedades para un mismo cultivar, letras mayúsculas distintas indican diferencia significativa entre cultivares para una misma humedad, según test de Tukey ($p \leq 0,05$)).

En los cultivares Luz de Otoño y Aguadulce, el contenido de taninos totales presentó un descenso a medida que disminuyó la humedad de los granos, siendo mucho más notorio en el cultivar Aguadulce, en donde se observaron diferencias entre los tres estados de humedad, llegando finalmente a presentar en el último estado de humedad (65-69%) un tercio de lo que poseía inicialmente, obteniendo el valor más bajo de los tres cultivares, equivalente a 50 mg L⁻¹ (-)-epicatequina en comparación a los valores de 201 y 572 mg L⁻¹ (-)-epicatequina de los cultivares Luz de Otoño y Verde Bonita, respectivamente (Apéndice IV). Se puede observar que en el cultivar Luz de Otoño el descenso en el contenido de taninos totales fue significativo sólo cuando los granos pasaron de 75-80% a 70-74% de humedad, manteniéndose constante a partir de este último estado.

Como se puede apreciar en la Figura 3, Verde Bonita presentó un comportamiento distinto al de los otros cultivares, puesto que en el segundo estado de humedad (70-74%), el nivel de taninos aumentó 3,5 veces respecto al valor inicial (ascendió de 351 a 1212 mg L⁻¹ (-)-epicatequina) para posteriormente alcanzar un valor de 572 mg L⁻¹ durante el menor estado de humedad de los granos.

Al comparar el contenido de taninos totales entre los cultivares, se observaron diferencias en concentración en los tres estados de humedad. Durante los primeros dos estados, 75-80% a 70-74% de humedad, los cultivares Aguadulce y Luz de Otoño no presentaron diferencias entre sí, en cambio presentaron diferencias con respecto al cultivar Verde Bonita. En el segundo estado de humedad, este porcentaje aumentó a favor de Verde Bonita, el cual alcanzó el contenido de (-)-epicatequina más alto registrado en el estudio.

Durante el estado de menor humedad de los granos, los tres cultivares presentaron diferencias entre sí.

Análisis individualizado de compuestos fenólicos.

Para el análisis de compuestos fenólicos de bajo peso molecular, se analizaron muestras de extractos de granos según su porcentaje de humedad. Los compuestos fenólicos estudiados fueron posteriormente identificados mediante la comparación de su espectro UV y tiempo de retención con su respectivo estándar. Como se puede observar en los cromatogramas obtenidos para cada cultivar (Figuras 4, 5 y 6), los compuestos fenólicos identificados en los granos fueron del tipo flavonoide, pertenecientes a las familias de los flavanoles y los flavonoles. Dentro del grupo de los flavanoles los compuestos observados fueron: prodelfinidinas, procianidinas, (+)-catequina y (-)-epicatequina, y dentro del grupo de los flavonoles se encontraron: quercetina y miricetina.

En las Figuras 4, 5 y 6 se presentan los patrones cromatográficos obtenidos para cada cultivar durante una humedad determinada.

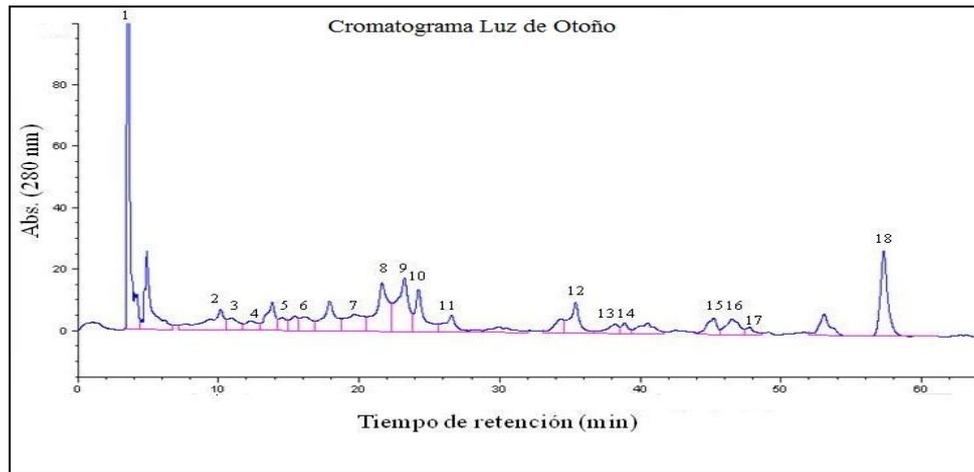


Figura 4. Cromatograma patrón (280 nm) de un extracto de granos de haba del cultivar Luz de Otoño a 75-80% de humedad. Los compuestos identificados en las muestras analizadas en orden a su tiempo de aparición en el cromatograma es el siguiente: (1) prodelfinidina; (2-7) procianidina; (8,9) prodelfinidina; (10) (+)-catequina; (11) procianidina; (12) (-)-epicatequina; (13-17) quercetina; (18) miricetina.

Como muestra la Figura 4 en el cultivar Luz de Otoño a 75-80% de humedad fue posible identificar 18 compuestos de los cuales 12 correspondieron al grupo de los flavanoles (prodelfinidinas, procianidinas, (+)-catequina y (-)-epicatequina) y 6 al grupo de los flavonoles (quercetina y miricetina).

Para el cultivar Verde Bonita a 70-74% de humedad, fue posible identificar 18 compuestos de los cuales 13 correspondieron al grupo de los flavanoles (prodelfinidinas, procianidinas, (+)-catequina y (-)-epicatequina) y 5 al grupo de los flavonoles (quercetina y miricetina) (Figura 5).

Por último, en el caso del cultivar Aguadulce, se identificaron 19 compuestos de los cuales 10 correspondieron al grupo de los flavanoles (prodelfinidinas, procianidinas, (+)-catequina y (-)-epicatequina) y 9 al grupo de los flavonoles (quercetina y miricetina) (Figura 6).

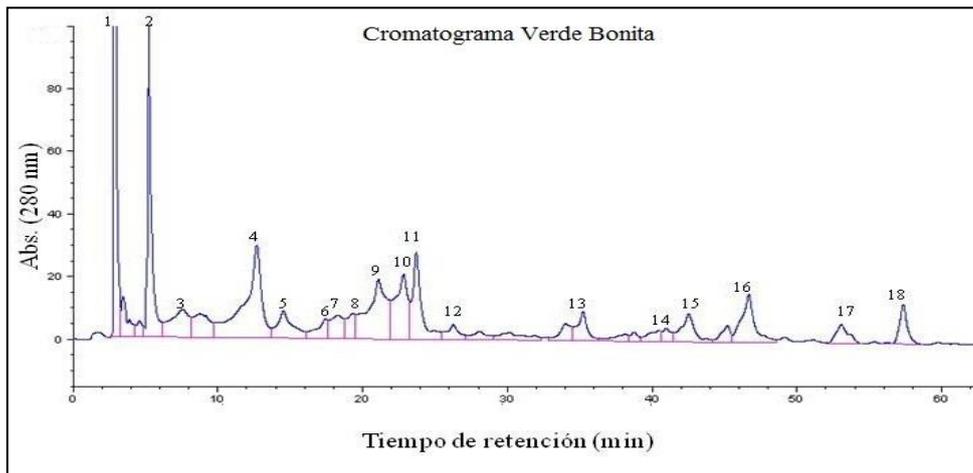


Figura 5. Cromatograma patrón (280 nm) de un extracto de granos de haba del cultivar Verde Bonita a 70-74% humedad. Los compuestos identificados en las muestras analizadas en orden a su tiempo de aparición en el cromatograma es el siguiente: (1-3) prodelfinidina; (4,5) procianidina; (6) prodelfinidina; (7,8) procianidina; (9,10) prodelfinidina; (11) (+)-catequina; (12) procianidina; (13) (-)-epicatequina; (14-16) quercetina; (17,18) miricetina.

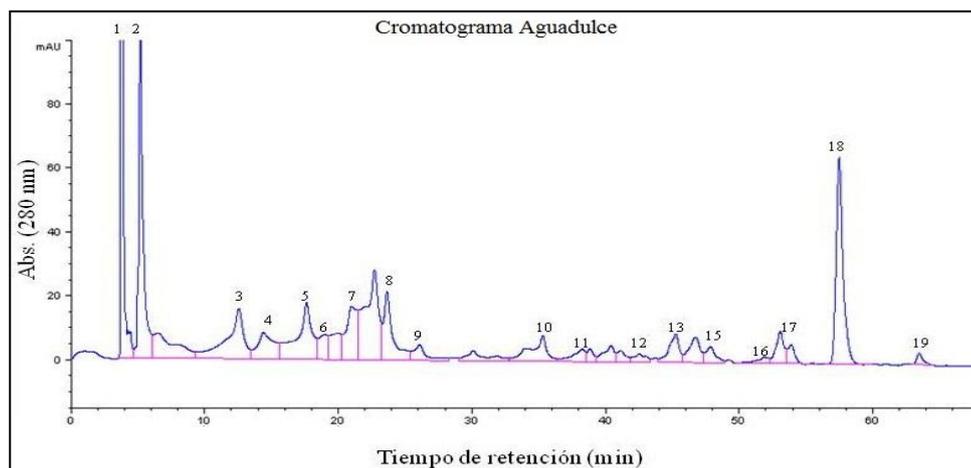


Figura 6. Cromatograma patrón (280 nm) de un extracto de granos de haba del cultivar Aguadulce a 75-80% de humedad. Los compuestos identificados en las muestras analizadas en orden a su tiempo de aparición en el cromatograma es el siguiente: (1,2) prodelfinidina; (3,4) procianidina; (5) prodelfinidina; (6) procianidina; (7) prodelfinidina; (8) (+)-catequina; (9) procianidina; (10) (-)-epicatequina; (11-13) quercetina; (14-19) miricetina.

Del análisis de compuestos fenólicos de bajo peso molecular, se pudo apreciar que para los tres cultivares, los compuestos pertenecientes a la familias de los flavanoles y los flavonoles, se encontraron en distintas concentraciones, dado que existieron estas diferencias en el número de compuestos pormenorizados identificados en los cromatogramas de cada cultivar estudiado. En el Cuadros 3 se presentan los compuestos pormenorizados de cada familia fenólica cuantificada en las muestras en estudio.

Cuadro 3. Concentración promedio (mg kg^{-1}), \pm desviación estándar de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular encontrados en los tres cultivares evaluados.

		75-80% H	70-74% H	65-69% H
Compuesto		Concentración mg kg^{-1}		
Prodelfinidinas	Luz de Otoño	70,0 \pm 7,1 Ba ¹	34,7 \pm 0,7 Bb	21,4 \pm 1,5 Bc
	Verde Bonita	115,0 \pm 11,1 Aa	57,6 \pm 2,9 Ab	44,5 \pm 4,5 Ab
	Aguadulce	99,5 \pm 7,6 Aa	36,2 \pm 2,9 Bb	22,9 \pm 2,5 Bc
Procianidinas	Luz de Otoño	17,8 \pm 1,2 Ba	20,4 \pm 1,2 Ba	18,2 \pm 1,5 Aa
	Verde Bonita	13,3 \pm 1,3 Cc	36,7 \pm 1,2 Aa	17,7 \pm 1,5 Ab
	Aguadulce	29,0 \pm 1,4 Aa	8,5 \pm 0,5 Cb	10,3 \pm 1,0 Bb
(+) -Catequina	Luz de Otoño	0,0 \pm 0,0 Cc	2,8 \pm 0,2 Cb	9,5 \pm 0,6 Aa
	Verde Bonita	17,6 \pm 1,5 Aa	9,0 \pm 0,6 Ab	3,5 \pm 0,3 Bc
	Aguadulce	10,5 \pm 0,9 Ba	4,4 \pm 0,3 Bb	1,1 \pm 0,1 Cc
(-) -Epicatequina	Luz de Otoño	2,3 \pm 0,2 Ca	3,6 \pm 0,2 Bb	3,5 \pm 0,1 Ab
	Verde Bonita	7,0 \pm 0,3 Aa	5,5 \pm 0,6 Ab	2,4 \pm 0,1 Bc
	Aguadulce	5,0 \pm 0,3 Ba	4,0 \pm 0,4 Bb	3,5 \pm 0,1 Ab
Quercetina	Luz de Otoño	3,1 \pm 0,1 Ba	N.D.	N.D.
	Verde Bonita	6,2 \pm 0,3 Aa	2,2 \pm 0,2 Ab	1,5 \pm 0,1 Ac
	Aguadulce	1,7 \pm 0,2 Ca	N.D.	N.D.
Miricetina	Luz de Otoño	10,1 \pm 0,5 Ca	2,1 \pm 0,2 Bb	0,0 \pm 0,0 Bc
	Verde Bonita	17,0 \pm 1,2 Ba	6,4 \pm 0,4 Ab	6,3 \pm 0,1 Ab
	Aguadulce	20,2 \pm 1,7 Aa	0,3 \pm 0,0 Bb	N.D.

¹Letras minúsculas distintas indican diferencia significativa entre humedades para un mismo cultivar; letras mayúsculas distintas dentro de un mismo compuesto, indican diferencia significativa entre cultivares para una misma humedad, según test de Tukey ($p \leq 0,05$), N.D: No detectado.

En relación al análisis individualizado de compuestos fenólicos de bajo peso molecular, en el Cuadro 3, se puede observar que los compuestos pormenorizados más abundantes fueron las procianidinas y las prodelfinidinas, destacándose estas últimas por estar en concentraciones superiores a los 21 mg kg^{-1} durante todo el estudio en los tres cultivares evaluados. Se observó una disminución en la concentración de estos compuestos a medida que la humedad de los granos descendía (Cuadro 3). Se observaron diferencias significativas para el cultivar Luz de Otoño y Aguadulce, en el contenido de prodelfinidinas, entre los tres estados de humedad de los granos, en donde estos compuestos disminuyeron en 48 y 76 mg kg^{-1} respectivamente, entre el primer y el último estado de humedad. En el cultivar Verde Bonita esta disminución se obtuvo cuando la humedad descendió del 75-80%, correspondiendo a $57,4 \text{ mg kg}^{-1}$.

La concentración de procianidinas fue diferente para cada estado de humedad dentro de cada cultivar, observándose un comportamiento distinto a medida que disminuía la humedad de los granos.

En cuanto a los flavonoles, quercetina y miricetina, la concentración de estos compuestos disminuyó junto con la pérdida de humedad en los granos. En los cultivares Aguadulce y Luz de Otoño, la quercetina no se detectó en los dos últimos estados de humedad (70-74% y 65-69%). Este mismo comportamiento se observó en la miricetina pero solo durante el último estado de humedad (65-69%).

Con respecto a los compuestos (-)-epicatequina y (+)-catequina, en los cultivares Verde Bonita y Aguadulce, su concentración disminuyó a medida que lo hizo la humedad de los granos, siendo esta disminución significativa, en el caso del compuesto (+)-catequina, para los tres cultivares evaluados. En el cultivar Luz de Otoño se observó un aumento de estos compuestos a medida que el grano presentó menor humedad.

En cuanto a las diferencias entre cultivares para cada estado de humedad (Cuadro 3), se observaron diferencias en la concentración de compuestos fenólicos de bajo peso molecular. Durante el estado de mayor humedad en los granos existieron diferencias para todos los compuestos en los tres cultivares, salvo para el caso de las prodelfinidinas en donde los cultivares Verde Bonita y Aguadulce presentaron una acumulación similar.

Para el segundo estado de humedad, el cultivar Verde Bonita presentó diferencias con los otros cultivares en la concentración de los compuestos prodelfinidinas, (-)-epicatequina, miricetina y quercetina. En el caso de los compuestos (+)-catequina y procianidinas se obtuvieron diferencias entre los tres cultivares evaluados.

En el estado de menor humedad de los granos, es donde más se aprecian las diferencias entre los cultivares en la concentración de estos compuestos, no observándose un comportamiento similar con los otros estados de humedad de los granos.

Variación del color en los granos

Mediante las coordenadas L^* , a^* y b^* se puede definir un color correctamente dentro del sistema CIELab, el cual define un espacio cromático en coordenadas rectangulares. Los tres ejes representan las graduaciones entre colores opuestos, así L^* corresponde a la claridad (fluctúa entre el blanco y el negro) y a^* y b^* a la cromaticidad; concretamente, a^* define el componente rojo/verde y b^* el amarillo/azul. Estas coordenadas son una expresión numérica que representa la proporción relativa de cada uno de los colores, base necesaria para reproducir un color concreto (Zamora, 2003). C^* representa la saturación o intensidad del color, es decir, la cercanía del color al gris o al matiz puro y h° define el ángulo de tono (McGuire, 1992).

En el Cuadro 4 se puede observar la variación de la luminosidad de los granos de los tres cultivares evaluados.

Cuadro 4. Variación de la luminosidad de los granos en los tres cultivares en relación a la humedad de cosecha.

Coordenadas	Cultivar	Humedad		
		75-80%	70-74%	65-69%
L^*	Luz de Otoño	70,0 ± 1,8 Ab ¹	73,7 ± 1,3 Aa	74,4 ± 1,4 Aa
	Verde Bonita	66,5 ± 1,8 Ab	70,4 ± 2,5 Aab	72,0 ± 0,6 Aa
	Aguadulce	67,6 ± 1,5 Ab	70,0 ± 0,1 Ab	72,6 ± 0,9 Aa

¹Letras minúsculas distintas en una misma fila indican diferencia estadísticamente significativa entre humedades para un mismo cultivar ($p \leq 0,05$), Letras mayúsculas distintas en una misma columna indican diferencia estadísticamente significativa entre cultivares para una misma humedad ($p \leq 0,05$), \pm desviación estándar. El parámetro de color L^* corresponde a la luminosidad del grano y varía entre 0 (negro) y 100 (blanco).

En los tres cultivares, a medida que disminuyó la humedad de los granos, los valores de luminosidad aumentaron, siendo estas diferencias significativas para los tres cultivares entre el primer y último estado de humedad.

El cultivar Verde Bonita, fue el que presentó el mayor aumento en la luminosidad (8,3%) entre el primer y último estado de humedad del grano, en tanto que los otros dos cultivares presentaron una luminosidad similar en cada estado de desarrollo, obteniendo Luz de Otoño y Aguadulce un aumento en la luminosidad de un 6,2% y un 7,3 respectivamente.

En cuanto a los componentes de color a^* , b^* , C^* y h° en los cultivares Verde Bonita y Aguadulce, no presentaron cambios significativos a medida que disminuyó la humedad de sus granos.

En la Figura 7 se observa la variación de los parámetros de color a^* , b^* y C^* en el cultivar Luz de Otoño, puesto que fue el único cultivar que presentó diferencias significativas en estos parámetros de color a medida que disminuyó la humedad de sus granos.

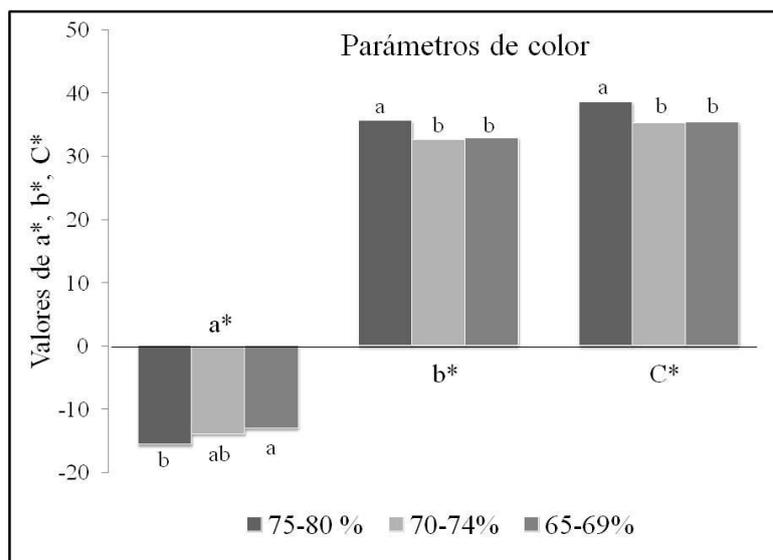


Figura 7. Variación de los parámetros de color a^* , b^* y C^* en el cultivar Luz de Otoño evaluados a medida que disminuye la humedad de los granos (Letras minúsculas distintas indican diferencia significativa entre humedades para el mismo cultivar, $p \leq 0,05$).

Los valores negativos de a^* indican la contribución de colores verdes en la testa de los granos. Se pudo verificar una disminución significativa en el cultivar Luz de Otoño al avanzar la deshidratación de sus granos (Apéndice V); Observándose una pérdida en la coloración verde de los granos (reducción de un 20% en el valor de a^* , entre el estado de mayor y menor humedad).

Los valores positivos de b^* indican coloraciones amarillas y los negativos coloraciones en azul, obteniéndose valores de este componente positivos durante todas las mediciones. La disminución significativa del parámetro b^* entre el primer y segundo estado de madurez de los granos en Luz de Otoño correspondió a una pérdida de colores amarillos en la testa.

La disminución de C^* refleja un color más opaco, el aumento significa que el color se hizo más intenso. Se puede apreciar que en el cultivar Luz de Otoño el color se hace más opaco a medida que disminuyó la humedad de los granos, siendo esta significativa entre el primer y segundo estado de humedad, obteniendo un grano un 9% más opaco cuando la humedad fue inferior al 75%.

Entre los cultivares Luz de Otoño y Verde Bonita se apreciaron diferencias durante el estado de mayor humedad de los granos (75-80% humedad), estas diferencias fueron significativas en los parámetros b^* y C^* (Apéndice V), presentando el cultivar Luz de Otoño un color más intenso y amarillo en la testa de sus granos que el cultivar Verde Bonita. Posterior a este estado de humedad, no se apreciaron diferencias entre los cultivares a medida que disminuyó la humedad de los granos para ningún parámetro de color.

En general, el ojo humano es capaz de distinguir dos colores cuando la diferencia de color total (ΔE^*) entre dos muestras es ≥ 1 (Negueruela *et al.*, 1995; Ayala *et al.*, 1997; Gonnet, 1998; citado por Pérez-Magariño and González-Sanjosé, 2003). En el Cuadro 5 se puede observar el valor de la diferencia total de color perceptible al ojo humano.

Cuadro 5. Valor de la diferencia total de color (ΔE^*) perceptible al ojo humano en los tres cultivares evaluados.

	H_1/H_2^1	H_2/H_3	H_1/H_3
Luz de Otoño	6,0	1,2	5,9
Verde Bonita	4,1	1,7	5,8
Aguadulce	2,3	2,8	5,2

¹H₁: 75-80%; H₂: 70-74%; H₃: 65-69%.

Como muestra el Cuadro 6, según el ojo humano, se observó una diferencia de color en la testa entre todos los estados de madurez de los granos en los tres cultivares evaluados a medida que disminuyó la humedad. Esta diferencia en color fue mayor entre el primer y el último estado de madurez de los granos (H_1/H_3), en tanto que los cambios menos perceptibles, al ojo humano, en el color de la testa de los granos, se produjeron entre el segundo y tercer estado de madurez en los tres cultivares (H_2/H_3). Cabe destacar que en el cultivar Luz de Otoño, existió una alta diferencia entre el color de la testa del primer estado de humedad con el segundo y tercero, siendo estas diferencias las más altas de los tres cultivares.

DISCUSIÓN

Las leguminosas de grano son claves en la seguridad nutricional de grandes grupos de población. Su ingesta se ha incrementado en los últimos años debido a una mayor conciencia por parte de la sociedad por consumir dietas vegetales sanas y equilibradas (Martínez *et al.*, 2003). A pesar de esto, su consumo aun no es masivo, pudiendo este hecho ser atribuible a un grado insuficiente de innovación para el desarrollo de productos que se adapten a la vida actual (Olmedilla *et al.*, 2010). Además, existen pocos estudios relacionados con el potencial nutricional de este grupo de plantas en términos de compuestos antioxidantes en sus granos, sobre todo en productos para consumo hortícola.

Para que un alimento sea incorporado a la dieta diaria es importante que cumpla con ciertas condiciones que poseen los consumidores para considerarlo un aporte, dentro de estos requisitos están el color, el sabor, la textura y actualmente que presente propiedades antioxidantes, es decir, que tengan un efecto directo en la salud como por ejemplo la prevención de enfermedades degenerativas y crónicas (Shao *et al.* 2003; Alén-Ruiz *et al.* 2009). Debido a las características anteriores, las leguminosas, debieran incorporarse a la dieta regular por las propiedades benéficas que su consumo otorga, tanto desde el punto de vista nutricional como funcional.

El sabor de un alimento es esencial para que las personas lo consuman regularmente, este parámetro esta dado fundamentalmente por los sólidos solubles, los fenoles y compuestos aromáticos presentes (Berger, 1991).

En el presente estudio las concentraciones promedio de los sólidos solubles aumentaron a medida que avanzó la maduración en los granos de los tres cultivares evaluados (Figura 2). Este comportamiento fue diferente a lo observado por Fontecilla (1985), el cual, al evaluar los sólidos solubles como posibles índices de madurez en arveja verde (*Pisum sativum* L.), observó que el contenido de estos aumentó desde los estados iniciales de formación del grano, hasta el estado de cosecha de arveja verde (70-75% H), pero después de este nivel de humedad, tendió a bajar, debido a la conversión de los azúcares en almidón. En los tres cultivares evaluados en el presente ensayo, existió un aumento progresivo de los sólidos solubles en diferentes magnitudes hasta la última cosecha realizada (65-69% H), no observándose en este estado una disminución en el contenido de estos compuestos aunque los granos en este caso presentaban un estado de madurez más avanzado que la determinada por Fontecilla (1985). A pesar que el estudio de Fontecilla (1985) se realizó en una especie diferente, es el que ofrece una buena comparación con los resultados de este ensayo debido a que no hay estudios al respecto en haba, especialmente en Chile, lo cual hace más importante este trabajo.

Se pudo observar además, que los tres cultivares, para el mismo nivel de humedad, presentaron distintos valores en el contenido de sólidos solubles, es decir, existirá variabilidad genética con respecto a este parámetro, sobre todo lo observado en el cultivar Aguadulce (de ahí su nombre comercial), que durante todo el estudio presentó el contenido más alto de sólidos solubles. La razón de este hecho podría estar asociada a lo indicado por Hidalgo (2003) en relación a que las condiciones climáticas particulares de cada año y las técnicas de cultivo permiten que la maduración y la cinética de acumulación de azúcares sean distintas para cada especie y cultivar. Además hay que

destacar que las condiciones climáticas presentes durante el desarrollo del cultivo fueron óptimas para la especie (Apéndice II), según lo indicado por Confalone (2008).

El color es el primer atributo que el consumidor percibe en un alimento, el cual puede variar considerablemente, dependiendo de las condiciones edafoclimáticas y de manejo en las que fue producido (Sáenz, 1989). El rango de variación de color que un consumidor acepte para un alimento determinado, depende de la idea preconcebida que posee acerca de cómo debe ser o parecer. Este es un índice útil para determinar calidad general y puede influenciar a los consumidores incluso en atributos tales como el sabor (Sepúlveda, 1998).

En el estudio, se observó que para los tres cultivares, a medida que descendió la humedad de los granos el color de la testa cambió frente a esta disminución. A medida que los granos presentaron mayor humedad, el grado de oscuridad de la testa también fue mayor. El cultivar Luz de Otoño se tornó menos verde y más opaco cuando la humedad de sus granos disminuyó del 75-80%. Sin embargo en los cultivares Verde Bonita y Aguadulce no se apreciaron cambios en las tonalidades verdes, amarillas y en la cromaticidad, lo que indica que el cambio de cada parámetro de color fue dependiente del cultivar, lo que es reafirmado por Crepón *et al.* (2009) y Nasar-abbas *et al.* (2009), quienes indican que la gama de colores de la testa de las semillas de los diferentes cultivares de habas varía ampliamente. Lancaster *et al.* (1997) plantean que la expresión del color del pigmento está influenciado por factores físicos característicos de cada cultivar.

Sin embargo, se pudo apreciar una tendencia en el cultivar Verde Bonita en donde las tonalidades de los granos se fueron tornando más verdes e intensas a medida que disminuyó la humedad. El cultivar Aguadulce en cambio, presentó un color más estable dentro de todos los parámetros analizados, no presentó cambios en las tonalidades verdes y amarillas, solo una disminución de C^* , que reflejó un color levente más opaco a medida que se fueron deshidratando sus granos. Faiguenbaum (2003) al respecto expone que los granos, una vez que sobrepasan la madurez óptima para su consumo, van adquiriendo un color más opaco y que se tornan habitualmente de un color crema o verde grisáceo, al estado de madurez hortícola (70-74% humedad). Esto se puede deber a la degradación de la clorofila y el enmascaramiento de otros pigmentos presentes o la síntesis de nuevos pigmentos (Berger, 1989).

Estos cambios de color son perceptible al ojo humano, lo cual es considerable ya que Crespón *et al.* (2009) indica que para consumo hortícola el color de la testa de la semilla de haba es importante para su comercialización.

Otro aspecto de gran importancia en los últimos tiempos y que se prioriza en los alimentos, es la presencia de compuestos que le confieran propiedades benéficas para la salud. Entre estos compuestos, están los taninos y compuestos fenólicos como responsables de las propiedades antioxidantes.

Los compuestos fenólicos identificados en los granos de haba fueron del tipo flavonoide, pertenecientes a las familias de los flavanoles y los flavonoles, lo que concuerda con lo expuesto por Amarowicz *et al.* (2008), quienes encontraron que los compuestos fenólicos dominantes presentes en semillas de leguminosas son los flavonoides, flavonas y procianidinas y que estos compuestos dependen de la diversidad biológica de la planta.

En el ensayo se observaron diferentes comportamientos en la concentración de los compuestos fenólicos, dependiendo del cultivar y del estado de humedad del grano. Por ejemplo, la variación en la concentración de procianidinas fue diferente para cada cultivar, la concentración de prodelfinidinas, quercetina, miricetina, (-)-epicatequina y (+)-catequina disminuyó a medida que también lo hizo el contenido de humedad, con excepción del cultivar Luz de Otoño que presentó un aumento en el contenido de (-)-epicatequina y (+)-catequina. Además, se pudo observar que existieron diferencias de concentración entre los cultivares dentro de cada porcentaje de humedad. En los tres cultivares evaluados, los compuestos más abundantes fueron las prodelfinidinas, sin embargo, estudios llevados a cabo por Nasar-abbas *et al.* (2009) determinaron la presencia minoritaria de prodelfinidinas existiendo por tanto variabilidad genética en *Vicia faba* L. en el contenido de compuestos fenólicos. Este hecho fue avalado por Bekkara *et al.* (1998) quienes estudiaron dos cultivares de *Vicia faba* L., donde un perfil correspondió principalmente a derivados de la (+)-catequina, de los taninos condensados y de las flavonas; en tanto que en el otro cultivar se encontraron ácidos fenólicos, flavonoles, flavonas, flavonoles y dihidroflavonoles, todo esto medido en grano seco.

Las disminuciones observadas en los compuestos fenólicos anteriormente mencionados, pueden deberse a su polimerización, dando lugar a polímeros insolubles y de alto peso molecular. También puede ser atribuido a la degradación oxidativa de los compuestos fenólicos, debido a una sobre maduración de los granos en el tercer estado de humedad. Sin embargo, esta última característica no es la más estudiada y no se tiene claro como ocurre, los productos que arroja y cuáles son las proteínas participantes en este proceso (Zhao *et al.*, 2010). Estudios llevados a cabo en lentejas, demuestran que el pardeamiento en las semillas almacenadas, es el resultado de la polimerización de compuestos fenólicos de bajo peso molecular, a productos de alto peso molecular (Dueñas *et al.*, 2005).

Es bastante común en el mercado chileno destinado a la industria de los congelados, donde se cosecha de una sola vez, que se cosechen en forma tardía los granos esperando mayores rendimientos, debido que las plantas florecen desde los nudos inferiores hacia los superiores, por lo que la madurez de los granos ocurre en forma diferida. El problema surge debido a que la cosecha en esta etapa contiene en su mayoría granos de habas sobre maduros, con humedades en torno a los 65-69%, lo cual produce un endurecimiento del grano de haba (Faiguenbaum, 2003). Además, esta sobre madurez también puede producir una disminución de los compuestos fenólicos debido a lo anteriormente citado, y que se pudo observar en el presente estudio, lo cual puede afectar su calidad, debido a la disminución de compuestos que pueden ser beneficiosos para la salud humana.

Las fluctuaciones observadas en las concentraciones de los compuestos fenólicos en los distintos estados de madurez de los granos, también podrían estar relacionadas con los factores climáticos a los cuales estuvieron sometidos los granos, los cuales influyen en las concentraciones de estos compuestos y la velocidad con que estos cambios ocurren durante la maduración de los frutos (Winkler, 1965). Por tanto, las condiciones climáticas podrían incidir directamente en la concentración de polifenoles que se acumulan en la planta, ya que la fenilalaninamonioliasa (PAL) es la enzima que participa y conduce, a partir de la fenilalanina, la síntesis de compuestos fenólicos (Peña, 1999). Esta enzima se caracteriza por su sensibilidad a la temperatura y luminosidad (Haslam, 1998; Cortés, 2000); además, inciden en su acumulación factores

edáficos, hídricos, labores agronómicas y factores propios de la variedad (Díaz y Gaete, 1985). A esto se le suma que las plantas de *Vicia faba* L. pueden responder en forma diferente al mismo factor ambiental en los distintos períodos de desarrollo (Wang, 1960).

El cultivar Verde Bonita, cosechado con un contenido de humedad de 75-80%, presentó la mayor concentración de Quercetina (Cuadro 3), dato relevante, pues hay investigaciones que han demostrado que este flavonoide, es el que ha mostrado mayor efectividad en su función antioxidante y experimentos “*in vitro*” han confirmado el papel protector de la quercetina, inhibiendo en humanos las células cancerígenas del colon, glándula mamaria, ovario, región gastrointestinal y en la leucemia. (Martínez-Flórez *et al.*, 2002).

Otros compuestos de importancia observados en este estudio es la presencia de taninos condensados, los que ejercen efectos benéficos, tanto para la salud de las personas como para la planta. En este sentido los taninos presentes en el haba, son buenos donantes de electrones y podrían terminar la reacción en cadena de radicales mediante la conversión de los radicales libres a productos más estables (Amarowicz *et al.*, 2000). Los taninos son 15-30 veces más eficaces en la inhibición de los radicales peroxilo que los fenoles simples (Cheynier, 2000). Por su parte Nasar-Abbas *et al.* (2009) afirman que los taninos constituyen la mayor proporción fenólica del haba, lo que concuerda con el estudio realizado. Además fue posible observar que esta concentración disminuye durante la pérdida de humedad de los granos en los cultivares Aguadulce y Luz de Otoño. Esta disminución podría ser atribuible a la fuerte actividad antioxidante de los taninos, ya que estudios realizados por Amarowicz *et al.* (2000) comprobaron que existe una pérdida de taninos por oxidación en granos de haba.

Estudios realizados por Amarowicz *et al.* (2004) demostraron que existe una correlación positiva entre la cantidad de taninos y la astringencia en habas. Si bien es cierto es benéfico el alto contenido de taninos que presentaron los granos del cultivar Verde Bonita (durante el segundo estado de humedad registro el mayor contenido del estudio), este puede provocar problemas de astringencia haciéndola menos palatable y por lo tanto menos aceptada para su consumo. Esto se debe a que las propiedades organolépticas que influyen en la aceptabilidad de un alimento, en este caso una hortaliza, se encuentran la percepción de astringencia y amargor, las que dependen de la concentración tánica de estos, entre otros factores (Zamora, 2003). Por lo que sería importante realizar estudios futuros de cómo influyen estos compuestos fenólicos en la aceptabilidad de las habas cosechadas a diferentes contenidos de humedad.

Hay que indicar, que en el caso del haba para consumo hortícola, los granos pasan por diferentes procesos culinario-tecnológicos antes de su consumo, es decir deben pasar por un proceso de cocción previo a ser ingeridos, lo cual podría incidir en la degradación de este tipo de compuestos. Sin embargo, resultados obtenidos por Troszynska y Ciska (2002) en *Pisum sativum* L., indican que los taninos condensados que posee la cubierta de la semilla, se pueden considerar como estables al calor y ser empleados eficazmente en los sistemas alimentarios. Por lo tanto habría que llevar a cabo futuros estudios en los cultivares de haba evaluados y determinar si los compuestos obtenidos en este estudio son igualmente estables.

CONCLUSIONES

De acuerdo a las condiciones de este estudio y por los resultados obtenidos, las conclusiones son las siguientes:

En los tres cultivares el contenido de sólidos solubles aumenta a medida que disminuye la humedad, siendo diferente la acumulación para cada cultivar y existiendo una marcada diferencia entre los cultivares Aguadulce y Luz de Otoño, durante el estado de mayor humedad de los granos (75-80%).

Los componentes de color a^* , b^* , C^* y h° en los cultivares Verde Bonita y Aguadulce no cambian a medida que disminuye la humedad de sus granos, en cambio en el cultivar Luz de Otoño los granos se vuelven menos verdes y más opacos. Los tres cultivares presentan un aumento en la luminosidad del color de la testa a medida que disminuye la humedad.

Se observó una diferencia de color al ojo humano en la testa entre todos los estados de humedad de los granos en los tres cultivares evaluados.

La variación en la concentración de los taninos totales es diferente según cada cultivar y cada estado de madurez del grano, observándose que la mayor concentración de estos compuestos se presenta en el cultivar Verde Bonita a un contenido de humedad de 70-74% (consumo hortícola).

La concentración más alta de compuestos fenólicos de bajo peso molecular encontrados en los tres cultivares pertenecen a la familia de los flavanoles, particularmente las prodelphinidinas, siendo el cultivar Verde Bonita durante el primer estado de madurez del grano el que presentó la mayor concentración.

En forma general, en los cultivares Luz de Otoño, Verde Bonita y Aguadulce, al estado de humedad de 75-80%, se presentan las mayores concentraciones de compuestos fenólicos de bajo peso molecular, no obstante las diferencias se denotan solo a nivel de concentración de estos compuestos, no en su composición.

BIBLIOGRAFÍA

- Alén-Ruiz, F., M. García-Falcón, M. Pérez-Lamela, E. Martínez-Carballo y J. Simal-Gándara. 2009. Influence of major polyphenols on antioxidant activity in Mencía and Brancellao red wines. *Food Chemistry*. 113 (1): 53-60.
- Amarowicz, R., M. Naczek, R. Zadernowski y F. Shahidi. 2000. Antioxidant activity of condensed tannins of beach pea, canola hulls, evening primrose and faba vena. *Journal of Food Lipids*. 7: 195-205.
- Amarowicz, R. y B. Ronald. 2008. Legumes as a source of natural antioxidants. *Journal of Food Lipids*. 110: 865-878.
- Amarowicz, R., A. Troszynska, N. Barylko-Pikielna y F. Shahidi. 2004. Polyphenolics extracts from legume seeds: Correlations between total antioxidant activity, total phenolics content, tannins content and astringency. *Journal of Food Lipids*. 11: 278-286.
- Arnold, C. 1980. Máximum-minimum temperatures as a basic for computing heat units. *Proceeding of the Amer. Soc. For Hort. Science*. 76: 682-692.
- Atlas Agroclimatológico de Chile. Regiones IV a IX. Publicación N° 87. Marzo, 1990.
- Aykroyd, W., J. Doughty y A. Walker. 1982. Las leguminosas en la nutrición humana. Segunda edición. Estudio de la organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación, Roma, Italia. 136 p.
- Baginsky, C. 2008. Haba En Chile, Nuevas Alternativas Para Su Producción Hortícola. *Antumapu Revista de Extensión Agropecuaria y Medio Ambiente*. 6: 11-15.
- Bekkara, F., M. Jay, M. Viricel, y S. Rome. 1998. Distribution of phenolic compounds within seed and seedlings of two *Vicia faba* cvs differing in their seed tannin content, and study of their seed and root phenolic exudations. *Plant and Soil*. 203:27-36.
- Berger, H. 1991. Maduración e índices de madurez. p 15-26, *In: Primer curso internacional de postcosecha*. Universidad de Chile, Departamento de producción agrícola. Santiago, Chile. Octubre 15, 16,17 y 18. Universidad de Chile. Santiago, Chile.
- Carvajal, A. y R. Ortega. 2001. La dieta Mediterránea como modelo de dieta prudente y saludable. *Revista Chilena de Nutrición*. 28(2): 224-236.
- Carratú, B. y E. Sanzini. 2005. Sostanze biologicamente attive presenti negli alimenti di origine vegetale. *Ann Ist Super Sanità*. 41(1): 7 – 16.
- Cheyrier, V., M. Moutounet y P. Sarni-Manchado. 2000. Los compuestos fenólicos. *In: Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos*. Madrid Vicente Ediciones y Mundi-Prensa. 114-121 p.

Centro de información de recursos naturales (CIREN). 1996. Estudio Agrologico Región Metropolitana. Descripciones de suelos, materiales y símbolos. Publicación CIREN N°115. Santiago, Chile. 431 p.

Confalone, A. 2008. Crecimiento y desarrollo del cultivo del haba (*Vicia faba* L.). Parametrización del submodelo de fenología de CROPGRO-FABABEAN. Tesis Doctoral, Universidad de Santiago de Compostela, Departamento de producción vegetal. Lugo, España. 213p.

Cortés, J. 2000. Caracterización de la fracción fenólica de vinos comerciales del c.v. Merlot provenientes de cinco valles chilenos. Memoria Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile. 76p.

Crépon, K., P. Marget, C. Peyronnet, B. Carrouée, P. Arese y G. Duc. 2010. Nutritional value of faba bean (*Vicia faba* L.) seeds for feed and food. *Field Crops Research*. 115: 329–339.

Díaz, F. y C. Gaete. 1985. Bases climáticas para la denominación de origen de los vinos chilenos. Tesis Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile, Facultad de ciencias agronómicas. Santiago, Chile. 108p.

Dueñas, M., I. Estrella y T. Hernández. 2005. Occurrence of phenolic compounds in the seed coat and the cotyledon of peas (*Pisum sativum* L.). *European Food Research and Technology*. 219:116-123.

Elias, L., D. Fernandez y R. Bressani. 1979. Possible effects of seed coat polyphenolics on the nutritional quality of bean protein. *Journal of Food Science*. 44: 524–531.

Faiguenbaum, H. 2003. Haba pp.423-469. *In: Labranza, Siembra y Producción de los principales cultivos de Chile*. Ediciones Vivaldi y Asociados, Santiago, Chile.760p.

Fontecilla, C. 1985. Evaluación de los sólidos solubles, materia seca y diámetro de vaina, como posibles índices de madurez en arveja verde (*Pisum sativum* L.). Tesis Ingeniero Agrónomo. Pontificia Universidad Católica de Chile, Facultad de Agronomía. Santiago, Chile. 52p.

Hagerman, A., K. Riedl, A. Jones, K. Sovik, N. Ritchard, P. Hartzfeld y T. Riechel. 1998. High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as antioxidants. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. 46:1887- 1892.

Haslam, E. 1998. Practical polyphenolics from structure to molecular recognition and physiological action. Cambridge University Press. United Kingdom. 422 p.

Hidalgo, J. 2003. Tratado de Enología. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España. 1423p.

Kinsella, J., E. Frankel, B. German y J. Kanner. 1993. Possible Mechanisms for the Protective Role of Antioxidants in Wine and Plant Foods. *Food Technology University of California, College of Agricultural environmental, Chicago, EEUU*. 89p.

Lancaster, J., C. Lister, P. Reay y C. Triggs. 1997. Influence of pigment composition on skin color in a wide range of fruit and vegetables. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 122(4): 594-598.

Leighton, F., C. Castro, C. Barriga y I. Urquiaga. 1997. Vino y Salud. Estudios epidemiológicos y posibles mecanismos de los efectos protectores. *Revista Médica de Chile*. 125:483-491.

Leighton, F., I. Urquiaga y U. Urzúa. 1999. Antioxidantes Naturales. Impacto en la Salud. Pp 1-28. *In: 8^{vo} Congreso Latinoamericano de Grasas y Aceites*. Santiago, Chile. Octubre 26, 1999. Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile

Martínez, J., C. Arpe, R. Urrialde, J. Fontecha, M.A. Murcia, C. Gómez y A. Villarino. 2003. Nutrición y salud, nuevos alimentos para nuevas necesidades. Instituto de salud pública, Madrid, España, 188p.

Martínez-Flórez, J., J. González-Gallego, M. Culebras y M. Tuñón. 2002. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Departamento de fisiología, Universidad de León y Hospital de León. España. *Nutrición Hospitalaria*. 17(6): 271-278.

McGuire, R. 1992. Reporting of Objective Color Measurements. *HortScience*. 27(12):1254-1255.

Mercurio, M., R. Damberg, M. Herderich y P. Smith. 2007. High Throughput Analysis of Red Wine and Grape Phenolics, Adaptation and Validation of Methyl Cellulose Precipitable Tannin Assay and Modified Somers Color Assay to a Rapid 96 Well Plate Format. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55: 4651 – 4657.

Monterroso, V. y C. Wien. 1990. Flower and Pod Abscission Due to Heat Stress in Beans. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 115(4):631-634.

Nadal, S., A. Cabello, F. Flores y M. Moreno. 2005. Effect of growth habit on agronomic characters in faba bean. *Agriculturae Conspectus Scientificus*. 70(2): 43-47.

Nasar-Abbas, S., K. Siddique, J. Plummer, P. White, D. Harris, K. Dods y E. D'Antuono. 2009. Faba bean (*Vicia faba* L.) seeds darken rapidly and phenolic content falls when stored at higher temperature, moisture and light intensity. *Food Science and Technology*. 42:1703-1711.

Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (ODEPA), Ministerio de Agricultura Chile. 2011. Superficie cultivada con hortalizas. Disponible en: <http://www.odepa.cl>. Leído el 13 de Septiembre 2011.

Olmedilla, B., R. Farré, C. Asensio y M. Martín. 2010. Papel de las leguminosas en la alimentación actual. *Actividad Dietética*. 14(2):72-76.

Patrick, J. y F. Stoddard. 2010. Physiology of flowering and grain filling in faba vean. *Field crops research*. 115: 234-242.

Peña, A. 1998. Contribución al conocimiento del origen de problemas sensoriales en vinos. Su relación con los compuestos fenólicos y la presencia de compuestos

órganoclorados. Tesis Dr. Ingeniero Agrónomo, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España. 345p.

Peña, A. 1999. Polifenoles del vino. 1-14p. *In: Seminario Internacional de Microbiología y Polifenoles del Vino.* Universidad de Chile. Departamento de Agroindustria y Enología. 59p.

Pérez-Magariño, S. y M. González-Sanjosé. 2003. Application of absorbance values used in wineries for estimating CIELAB parameters in red wines. *Food chemistry.* 81: 301-306.

Rosso, P., 2001. Noticias: Alimentación, antioxidantes y envejecimiento. *Bio Noticias Facultad de Ciencias Biológicas Pontificia Universidad Católica de Chile.* Disponible en: http://www.bio.puc.cl/vinsalud/noticia/12_00libro.htm. Leído el 3 de agosto 2011.

Sáenz, C. 1989. Importancia de las medidas de color en alimentos. Pp 1-16. *In: El color en los alimentos. Medidas instrumentales.* Publicaciones Misceláneas Agrícolas N° 31, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Santiago. 94 p.

Shao, Z., L. Becker, T. Vanden Hoek, P. Schumacker, C. Li, D. Zhao, K. Wojcik, T. Anderson, Y. Qin, L. Dey y C. Yuan. 2003. Grape seed proanthocyanidin extract attenuates oxidant injury in cardiomyocytes. *Pharmacological Research.* 47: 463-469.

Sepúlveda, E. 1998. Manual de trabajos prácticos de análisis de alimentos. Publicación docente N° 4, Departamento de Agroindustria, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile. 51p.

Sohal, R. y R. Weindruch. 1996. Oxidative Stress, Caloric Restriction, and Aging. *Science.* 273(5271):59-63.

Troszynska, A. y E. Ciska. 2002. Phenolic compounds of seed coats of white and coloured varieties of pea (*Pisum sativum* L.) and their total antioxidant activity. *Journal of Food Science.* 20: 15–22.

Venegas, P. 2010. Aceptabilidad de vinos tintos de las var. Cabernet Sauvignon y Merlot, dependiendo de su concentración y estructura de flavanoles por parte de un panel sensorial. Tesis Magíster en Enología y Vitivinicultura, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile. 75p.

Venereo, J. 2002. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista cubana de medicina military.* 31(2):33-126.

Wang, J. 1960. A critique of the heat unit approach to plant response studies. *Ecology, Durham.* 41:785-790.

Winkler, A. 1965. General viticulture. University of California Press. California, United States of America. 792p.

Zamora, F. 2003. Elaboración y crianza del vino tinto: Aspectos científicos y prácticos. 53-58p. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España. 224p.

Zhao, J., Y. Pang y R. Dixon. 2010. The mysteries of proanthocyanidin transport and polymerization. *Plant Physiology*. 153: 437-443.

APÉNDICES

Apéndice I. Registro de las humedades requeridas por cada tratamiento

Tratamiento	Peso fresco	Peso seco	% Humedad	Humedad Cosecha
T1R1	50,10	11,40	77,2	
T1R2	50,40	12,60	75,0	77,3
T1R3	50,40	10,30	79,6	
T2R1	50,10	15,90	68,3	
T2R2	50,30	14,76	70,7	70,0
T2R3	50,40	14,56	71,1	
T3R1	50,64	17,53	65,4	
T3R2	50,33	17,55	65,1	65,7
T3R3	50,59	16,90	66,6	
T4R1	50,60	11,40	77,5	
T4R2	50,60	11,60	77,1	78,0
T4R3	50,30	10,40	79,3	
T5R1	50,40	13,64	72,9	
T5R2	50,70	12,90	74,6	74,1
T5R3	50,32	12,73	74,7	
T6R1	50,00	15,40	69,2	
T6R2	50,48	15,50	69,3	69,0
T6R3	50,67	15,90	68,6	
T7R1	50,40	11,80	76,6	
T7R2	50,30	10,70	78,7	78,1
T7R3	50,70	10,60	79,1	
T8R1	50,00	14,46	71,1	
T8R2	50,20	15,02	70,1	71,9
T8R3	50,60	12,84	74,6	
T9R1	50,40	17,32	65,6	
T9R2	50,76	16,83	66,8	66,8
T9R3	50,27	16,18	67,8	

Apéndice II. Promedio semanal de los datos climáticos muestreados durante todo el ensayo (temporada 2010).

Fecha	Precipitación		Temperatura			N° de heladas	U.C.
	(mm)		(°C)				
	Sem	Acum	máx	mín	med		
10-17 Jun	8	8	14,3	3,1	8,7	3	69,2
18-25 Jun	67	75	14,4	2,6	8,5	1	68,0
26 Jun - 3 Jul	0	75	17,3	-0,5	8,4	6	67,1
4-11 Jul	16	91	14,6	1,3	8,0	1	63,6
12-19 Jul	0	91	13,2	-2,3	5,5	8	43,9
20-27 Jul	9	100	12,6	-0,4	6,1	4	48,8
28 Jul - 4 Ago	7	107	12,5	-0,5	6,0	6	47,8
5-12 Ago	1	108	15,2	1,6	8,4	3	67,1
13-20 Ago	0	108	18,2	3,1	10,7	1	85,3
21-28 Ago	1	109	18,6	3,6	11,1	0	88,9
29 Ago - 5 Sep	14	123	16,5	3,4	9,9	0	79,6
6-13 Sep	2	125	20,4	4,4	12,4	0	99,3
14-21 Sep	0	125	22,6	4,1	13,3	0	106,5
22-29 Sep	7	132	19,5	3,1	11,3	0	90,3
30 Sep - 7 Oct	0	132	20,7	4,5	12,6	0	100,6
8-15 Oct	0	132	21,1	7,0	14,1	0	112,5
16-23 Oct	0	132	25,0	7,1	16,1	0	128,5
24-31 Oct	10	142	23,4	4,7	14,0	0	112,3
1-8 Nov	34	176	25,6	7,5	16,6	0	132,6
9-15 Nov	0	176	27,5	8,6	18,0	0	126,1

Fase Vegetativa

Fase Reproductiva

Sem = Semanal, **Acum** =Acumulada

Fuente: Desarrollado por el autor en base a los datos obtenidos de la Estación Meteorológica La Platina, Santiago, Región Metropolitana. 2010

Apéndice III. Contenido de sólidos solubles en los tres cultivares evaluados a medida que disminuye la humedad de los granos.

Cultivar	Humedad		
	75-80%	70-74%	65-69%
	°Brix		
Luz de Otoño	4,8 ± 0,3 Bb ¹	8,4 ± 0,2 Aa	9,2 ± 0,5 Aa
Verde Bonita	6,4 ± 0,2 ABa	6,6 ± 0,4 Aa	7,8 ± 0,3 Aa
Aguadulce	7,6 ± 0,2 Aa	8,4 ± 0,6 Aa	10,2 ± 0,3 Aa

¹Letras minúsculas distintas en una misma fila indican diferencia estadísticamente significativa entre humedades para un mismo cultivar, letras mayúsculas distintas en una misma columna indican diferencia estadísticamente significativa entre cultivares para una misma humedad ($p \leq 0,05$), ± desviación estándar.

Apéndice IV. Variación de los taninos totales durante las tres cosechas realizadas.

Cultivar	Humedad		
	75-80%	70-74%	65-69%
	mg L ⁻¹ (-)epicatequina		
Luz de Otoño	501,8 ± 45,4 Aa ¹	163,5 ± 7,8 Bb	201,7 ± 21,8 Ab
Verde Bonita	351,3 ± 33,5 Bb	1211,8 ± 94,8 Aa	572,2 ± 14,9 Bb
Aguadulce	555,7 ± 34,6 Aa	424,7 ± 31,9 Bb	50,1 ± 1,4 Cc

¹Letras minúsculas distintas indican diferencia significativa entre humedades para un mismo cultivar, letras mayúsculas distintas indican diferencia significativa entre cultivares para una misma humedad ($p \leq 0,05$), ± desviación estándar.

Apéndice V. Variación del color de los granos en relación a la humedad de cosecha.

Coordenadas	Cultivar	Humedad		
		75-80%	70-74%	65-69%
L*	Luz de Otoño	69,8 ± 1,8 Ab ¹	73,7 ± 1,3 Aa	74,4 ± 1,4 Aa
	Verde Bonita	66,5 ± 1,8 Ab	70,4 ± 2,5 Aab	71,9 ± 0,6 Aa
	Aguadulce	67,6 ± 1,5 Ab	69,9 ± 0,1 Ab	72,6 ± 0,9 Aa
a*	Luz de Otoño	-15,6 ± 0,6 Ab	-13,9 ± 0,2 Aab	-13,0 ± 1,0 Aa
	Verde Bonita	-13,9 ± 1,2 Aa	-14,5 ± 1,3 Aa	-14,9 ± 1,1 Aa
	Aguadulce	-15,5 ± 0,6 Aa	-15,0 ± 0,8 Aa	-15,0 ± 0,5 Aa
b*	Luz de Otoño	35,6 ± 0,6 Aa	32,6 ± 0,3 Ab	32,9 ± 0,7 Ab
	Verde Bonita	31,0 ± 1,7 Ba	32,3 ± 1,3 Aa	33,1 ± 1,8 Aa
	Aguadulce	33,8 ± 0,6 Aa	33,6 ± 0,9 Aa	33,2 ± 0,3 Aa
C*	Luz de Otoño	38,5 ± 0,5 Aa	35,2 ± 0,4 Ab	35,4 ± 0,4 Ab
	Verde Bonita	33,9 ± 1,8 Ba	35,3 ± 1,2 Aa	36,2 ± 1,8 Aa
	Aguadulce	37,2 ± 0,9 ABa	36,9 ± 0,5 Aa	36,3 ± 0,5 Aa
h°	Luz de Otoño	113,6 ± 0,3 Aa	113,3 ± 0,4 Aa	111,5 ± 1,7 Aa
	Verde Bonita	114,2 ± 0,1 Aa	113,8 ± 0,4 Aa	114,4 ± 0,1 Aa
	Aguadulce	114,2 ± 0,3 Aa	114,4 ± 0,6 Aa	113,7 ± 0,6 Aa

¹Letras minúsculas distintas indican diferencia significativa entre humedades para un mismo cultivar, letras mayúsculas distintas indican diferencia significativa entre cultivares para una misma humedad ($p \leq 0,05$), \pm desviación estándar.

ANEXOS

Anexo I. Análisis de suelo realizado en la temporada 2010 en la Estación Experimental Antumapu.

Análisis de Fertilidad	
Mediciones	Valores
pH	8
Conductividad Electrica (dS/ m)	1,8
Materia Organica(%)	2
Nitrogeno (mg/ kg)	19
Fosforo (mg/ kg)	75
Potasio (mg/ kg)	154

Fuente: Laboratorio de diagnostico nutricional, INIA

Anexo II. Representación del sólido de color para el espacio de color L^* , a^* , b^* , C^* y h° .

