



UNIVERSIDAD NACIONAL DE JULIACA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA EN INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS



"CINETICA DE DESAMARGADO DEL TARWI (*Lupinus mutabilis*) POR
CONGELACIÓN ACOPLADO CON MICROONDAS Y ULTRASONIDO"

Yakelin Eliana Yucra Mamani

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

Asesor(a): Dra.Sc. Ing. Olivia Magaly Luque Vilca

Co-asesor: M.Sc. Ing. José Manuel Prieto



JULIACA. 2021





UNIVERSIDAD NACIONAL DE JULIACA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA EN INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS



CINETICA DE DESAMARGADO DEL TARWI (*Lupinus mutabilis*) POR
CONGELACION ACOPLADO CON MICROONDAS Y ULTRASONIDO

TESIS PARA OPTAR EL TITULO DE

Yakelin Eliana Yucra Mamani

INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

TESIS PARA OPTAR EL TITULO DE
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

Asesor(a) Dra Sc Ing. Olivia Magaly Luque Vilca
Co-asesor M Sc Ing. José Manuel Prieto



JULIACA 2021

UNIVERSIDAD NACIONAL DE JULIACA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS



“CINÉTICA DE DESAMARGADO DEL TARWI (*Lupinus mutabilis*) POR
CONGELACIÓN ACOPLADO CON MICROONDAS Y ULTRASONIDO”

Yakelin Eliana Yucra Mamani

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

Asesor(a): Dra.Sc. Ing. Olivia Magaly Luque Vilca

Co-asesor: M.Sc. Ing. José Manuel Prieto

Juliaca, 2021

FICHA CATALOGRÁFICA

Yucra, Y. (2021). *Cinética de desamargado del Tarwi (*Lupinus mutabilis*) por congelación acoplado con microondas y ultrasonido, 2021*. (Tesis de Ingeniería). Universidad Nacional de Juliaca. Juliaca.

AUTOR: Yakelin Eliana Yucra Mamani

TÍTULO: Cinética de desamargado del Tarwi (*Lupinus mutabilis*) por congelación acoplado con microondas y ultrasonido.

PUBLICACIÓN: Juliaca, 2021

DESCRIPCIÓN: Cantidad de páginas (171 pp)

NOTA: Tesis de la Escuela Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias— Universidad Nacional de Juliaca.

CÓDIGO: 04-00003-02/Y94

NOTA: Incluye bibliografía.

ASESOR: Dra.Sc. Ing. Olivia Magaly Luque Vilca

CO-ASESOR: M.Sc. Ing. José Manuel Prieto

PALABRAS CLAVE:

Lupinus mutabilis, alcaloide Quinolizidínico, extracción, microondas, ultrasonido.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE JULIACA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS

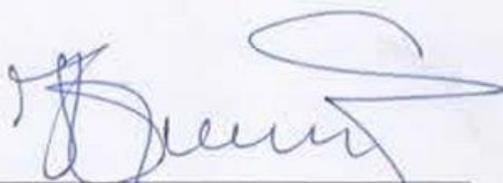
“CINÉTICA DE DESAMARGADO DEL TARWI (*Lupinus mutabilis*) POR
CONGELACIÓN ACOPLADO CON MICROONDAS Y ULTRASONIDO”

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE INGENIERO EN INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS

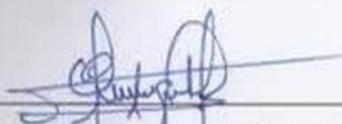
Presentada por:

Yakelin Eliana Yucra Mamani

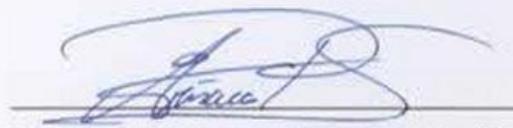
Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:



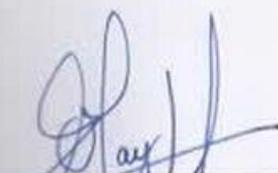
M.Sc. Ing. Julio Rumualdo Gallegos Ramos
PRESIDENTE DE JURADO



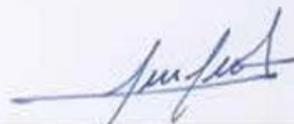
M.Sc. Ing. Lenin Quille Quille
2° MIEMBRO



M.Sc. Ing. Adaliht Jhony Arisaca Parillo
3° MIEMBRO



Dra. Sc. Ing. Olivia Magaly Luque Vilca
ASESOR DE TESIS



M.Sc. Ing. José Manuel Prieto
CO-ASESOR

DEDICATORIA

A mi familia, quienes son el motor de mi vida para seguir adelante,
frente a cualquier obstáculo que se presente.

AGRADECIMIENTO

Por este medio quiero expresar mi agradecimiento a mi Asesor de tesis la Dra.Sc. Ing. Olivia Magaly Luque Vilca y mi Co-asesor M.Sc. Ing. José Manuel Prieto, quienes me apoyaron desde un inicio con la investigación, por todos los conocimientos compartidos y su apoyo incondicional en cada etapa de la duración de la tesis y en la vida profesional.

Agradezco a mi familia por su apoyo incondicional, mis padres Washington y Eleuteria sin dejar de mencionar a mi hermano Willy y mi prima Zenaida quienes siempre estuvieron pendientes de todas actividades que desarrolle, y brindarme todo su apoyo desde el inicio como estudiante, tesista y en mi vida personal.

Al M.Sc. Ing. Thomas Ancco Vizarra, docente de la Universidad José María Arguedas de Andahuaylas, quien me apoyó desde un inicio para hacer realidad esta investigación con todo lo referido a los ultrasonidos.

A mis jurados M.Sc. Ing. Julio Rumualdo Gallegos Ramos, M.Sc.Ing. Adaliht Jhony Arisaca Parillo, M.Sc.Ing. Lenin Quille Quille por la coordinación, orientación y apoyo. A los laboratoristas quienes me apoyaron con todos los análisis realizados en el laboratorio de la Universidad Nacional de Juliaca Sede Ayabacas, al Lic. Ernesto, Ing. Maritza y la Lic. Elena, así como su orientación para seguir con la tesis.

Y sin dejar de mencionar a mis amigos, quienes me apoyaron desde un inicio y con la obtención de mis muestras para ejecutar y hacer realidad esta tesis, Yaneth, Renzo, Erica, Lizbeth, Ever, Jacob, Constantin, Franklin y Edwin.

Y por último a todas esas personas quienes me apoyaron a fin de culminar esta investigación.

Muchas gracias.

ÍNDICE GENERAL

| | |
|-----------------------|-------|
| RESUMEN | xviii |
| <i>ABSTRACT</i> | xix |
| INTRODUCCIÓN | 20 |

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

| | |
|--|----|
| 1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA..... | 22 |
| 1.2. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA..... | 23 |
| 1.2.1. Objetivo general. | 23 |
| 1.2.2. Objetivos específicos..... | 23 |
| 1.3. JUSTIFICACIÓN..... | 24 |

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

| | |
|--|----|
| 2.1. TARWI..... | 25 |
| 2.1.1. Lupinus. | 25 |
| 2.1.2. Taxonomía. | 27 |
| 2.1.3. Composición nutricional..... | 29 |
| 2.1.4. Alcaloides. | 31 |
| 2.1.5. Utilización. | 34 |
| 2.1.6. Variedades. | 35 |
| 2.1.7. Toxicidad de los alcaloides. | 36 |

| | |
|---|----|
| 2.1.8. Morfología..... | 37 |
| 2.1.9. Hidratación..... | 37 |
| 2.1.10. Desamargado..... | 39 |
| 2.2. CONCENTRACIÓN DE ALCALOIDES / SEPARACIÓN DE ALCALOIDES ... | 42 |
| 2.2.1. Métodos de cuantificación..... | 42 |
| 2.3. CINÉTICA..... | 44 |
| 2.3.1. Transferencia de masa..... | 45 |
| 2.3.2. Difusividad efectiva..... | 45 |
| 2.4. CONGELACIÓN..... | 47 |
| 2.5. TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN ECOLÓGICAS DE ALIMENTOS | 49 |
| 2.5.1. Microondas..... | 50 |
| 2.5.2. Ultrasonido..... | 54 |
| 2.6. ANÁLISIS SENSORIAL | 57 |
| 2.6.1. Prueba de perfil de Textura..... | 58 |

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

| | |
|--|----|
| 3.1. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN | 59 |
| 3.1.1. Hipótesis general..... | 59 |
| 3.1.2. Hipótesis específicas..... | 59 |
| 3.2. MATERIALES..... | 59 |
| 3.2.1. Lugar de la ejecución..... | 59 |

| | |
|--|----|
| 3.2.2. Materia prima. | 60 |
| 3.2.3. Materiales de laboratorio. | 60 |
| 3.2.4. Reactivos e insumos. | 60 |
| 3.2.5. Equipos. | 61 |
| 3.3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL..... | 62 |
| 3.3.1. Extracción de alcaloides quinolizidínicos del Tarwi. | 62 |
| a. Diseño experimental. | 62 |
| b. Preparación de la muestra. | 63 |
| c. Extracción asistida por microondas. | 63 |
| d. Extracción asistida por ultrasonido. | 65 |
| e. Desamargado convencional del tarwi. | 66 |
| f. Cuantificación de alcaloides quinolizidínicos. | 66 |
| g. Modelo de cinética y difusividad para la extracción de alcaloides con EAU y EAM... .. | 68 |
| h. Análisis sensorial..... | 70 |
| i. Análisis estadístico. | 71 |

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

| | |
|---|----|
| 4.1. PARÁMETROS DE EXTRACCIÓN DE ALCALOIDES POR MICROONDAS . | 72 |
| 4.2. PARÁMETROS DE EXTRACCIÓN DE ALCALOIDES POR ULTRASONIDOS | 76 |
| 4.3. DETERMINACIÓN DE LA DIFUSIVIDAD EFECTIVA DEL ALCALOIDE..... | 81 |

| | |
|--|-----|
| 4.3.1. Difusividad efectiva de lupanina por EAM..... | 81 |
| 4.3.2. Difusividad efectiva de lupanina por EAU..... | 86 |
| 4.3.3. Difusividad efectiva por ecotipos..... | 90 |
| 4.3.4. Difusividad efectiva teórica calculada del desamargado convencional. | 93 |
| 4.3.5. Difusividad efectiva de los métodos de extracción. | 95 |
| 4.4. ANÁLISIS CUALITATIVO | 98 |
| 4.5. ANÁLISIS CUANTITATIVO | 108 |
| 4.5.1. Lupanina extraída con microondas y ultrasonido..... | 110 |
| 4.5.2. Desamargado convencional..... | 117 |
| 4.5.3. Alcaloides extraídos por métodos..... | 118 |

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

| | |
|--|------------|
| 5.1. CONCLUSIONES..... | 125 |
| 5.2. RECOMENDACIONES | 126 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 127 |
| ANEXOS | 142 |
| ANEXO 1: Imágenes obtenidas durante la ejecución de la investigación. | 142 |
| ANEXO 2: Análisis de varianza y comparación de medias para los tratamientos..... | 156 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|---|-----|
| Tabla 1: Composición nutricional del Tarwi..... | 30 |
| Tabla 2: Ecotipos y variedades de Tarwi (<i>Lupinus mutabilis</i>) cultivadas en las zonas alto Andinas del Perú..... | 35 |
| Tabla 3: Desamargado de Tarwi según diversos autores. | 40 |
| Tabla 4: Extracción de alcaloides asistida por microondas..... | 64 |
| Tabla 5: Extracción de alcaloides asistida por ultrasonido..... | 65 |
| Tabla 6: Programación de gradientes para el UHPLC. | 67 |
| Tabla 7: Extracción de alcaloides Quinolizidínicos por microondas. | 73 |
| Tabla 8: Extracción de alcaloides Quinolizidicos por ultrasonido..... | 77 |
| Tabla 9: Difusividad efectiva de la lupanina, asistida por microondas. | 81 |
| Tabla 10: Difusividad efectiva de la lupanina, asistida por ultrasonidos. | 86 |
| Tabla 11: Difusividad efectiva calculada por ecotipos..... | 91 |
| Tabla 12: Difusividad efectiva calculada del método de desamargado convencional de diversos autores. | 94 |
| Tabla 13: Difusividad entre metodologías de extracción de alcaloides. | 96 |
| Tabla 14: Datos de calibración de la lupanina..... | 109 |
| Tabla 15: Cuantificación de lupanina en g(lup)/100g(Tarwi) por microondas. | 110 |
| Tabla 16: Cuantificación de lupanina en g(lup)/100g(Tarwi) por ultrasonido..... | 111 |
| Tabla 17: Cuantificación de lupanina por ecotipo 1 (Yunguyo), ecotipo 2 (Seccelambra) y método de extracción..... | 113 |
| Tabla 18: Desamargado convencional por diversos autores. | 117 |

| | |
|--|-----|
| Tabla 19. Comparación de métodos para la extracción de alcaloides por ultrasonidos, microondas y convencional. | 119 |
| Tabla 20: Prueba de textura del Tarwi. | 153 |
| Tabla 21: Calificación de jueces frente a los atributos de textura del Tarwi..... | 154 |
| Tabla 22: Análisis de varianza para tratamientos de microondas. | 156 |
| Tabla 23: Test de Tukey para comparación de medias de tratamientos por microondas.. | 156 |
| Tabla 24: Análisis de varianza para tratamientos de ultrasonidos..... | 156 |
| Tabla 25: Test de Tukey para comparación de medias de tratamientos por ultrasonidos. | 157 |
| Tabla 26: Análisis de varianza para la difusividad efectiva con tratamientos de microondas. | 157 |
| Tabla 27: Test de Tukey para comparación de medias de tratamientos por microondas en la difusividad efectiva..... | 157 |
| Tabla 28: Análisis de varianza para la difusividad efectiva con tratamientos de ultrasonido. | 158 |
| Tabla 29: Test de Tukey para comparación de medias de tratamientos por ultrasonido en la difusividad efectiva..... | 158 |
| Tabla 30: a) Análisis de varianza y Comparación múltiple Tukey para la Deff. de ecotipos, b) ANVA y comparación de Tukey para el contenido de lupanina por ecotipos..... | 159 |
| Tabla 31: Análisis de varianza y comparación múltiple de Tukey entre la Deff. de métodos para desamargado convencional. | 161 |
| Tabla 32: Comparación múltiple de Tukey para Deff. entre metodologías de extracción convencional, ultrasonido y microondas. | 162 |
| Tabla 33: Análisis de varianza y comparación de medias de Tukey entre tiempos, difusividad efectiva y contenido de lupanina extraído. | 163 |

| | |
|---|-----|
| Tabla 34: Análisis de varianza para jueces..... | 164 |
| Tabla 35: Comparación de Tukey entre jueces. | 164 |
| Tabla 36: Análisis de varianza para evaluar la dureza. | 164 |
| Tabla 37: Test de rangos múltiples de Duncan para la dureza. | 165 |
| Tabla 38: Análisis de varianza para evaluar la fracturabilidad. | 166 |
| Tabla 39: Test de rangos múltiples de Duncan para la fracturabilidad. | 166 |
| Tabla 40: Análisis de varianza para evaluar la calidad geométrica-lisa..... | 167 |
| Tabla 41: Test de rangos múltiples de Duncan para la calidad geométrica-lisa..... | 167 |
| Tabla 42: Análisis de varianza para evaluar la calidad geométrica-rugosa..... | 168 |
| Tabla 43: Test de rangos múltiples de Duncan para la calidad geométrica-rugosa. | 168 |
| Tabla 44: Análisis de varianza para evaluar la grasa..... | 169 |
| Tabla 45: Test de rangos múltiples de Duncan para la grasa. | 169 |
| Tabla 46: Análisis de varianza para evaluar la sensación residual-fácil de romper. | 170 |
| Tabla 47: Test de rangos múltiples de Duncan para sensación residual-fácil de romper.. | 171 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1: Distribución aproximada de <i>L. mutabilis</i> del nuevo mundo. | 26 |
| Figura 2: Principales especies de <i>Lupinus</i> cultivadas. | 27 |
| Figura 3: Ecotipos de Tarwi. | 28 |
| Figura 4: Estructura de algunos de los núcleos alcaloídicos más sencillos..... | 31 |
| Figura 5: Fórmula molecular de la lupanina..... | 33 |
| Figura 6: Fórmula molecular de la esparteína. | 33 |
| Figura 7: Fórmula molecular de hidroxilupanina. | 34 |
| Figura 8: Morfología de <i>Lupinus mutabilis</i> | 37 |
| Figura 9: Evolución de (Green Food Processing) en extracción de componentes | 49 |
| Figura 10: Diagrama de un horno de microondas. | 51 |
| Figura 11: Mecanismo de transferencia de calor y masa. a) Extracción con microondas. b) Transferencia entre métodos..... | 52 |
| Figura 12: Sistema de ultrasonidos. a) Baño ultrasónico y b) Ultrasonido de inyección.. | 55 |
| Figura 13: Posible difusión de componente en la extracción con ultrasonidos..... | 56 |
| Figura 14: Diagrama esquemático del dispositivo de UMAE a) Extracción de aceite esencial de pimientos blancos y negros, b) Extracción de oligosacáridos de semillas de loto (<i>Nelumbo nucifera Gaertn.</i>) | 57 |
| Figura 15: Diseño experimental del desamargado del Tarwi. | 62 |
| Figura 16: Tarwi congelado. a) Ecotipo “Yunguyo”, b) Ecotipo “Seccelambra”..... | 63 |
| Figura 17: Extracción de alcaloides por microondas. a) Relación g(lupanina)/100g(Tarwi) Vs Tiempo (min) Vs Tratamiento PM, b) Diagrama 3D de la extracción con microondas. | 74 |
| Figura 18: Comparación de medias de los tratamientos en la extracción de lupanina. | 75 |

| | |
|--|-----|
| Figura 19: Relación g(lupanina)/100g(Tarwi) Vs Tiempo (min) Vs Tratamiento US..... | 78 |
| Figura 20. Comparación de tratamientos con ultrasonido frente a la extracción de lupanina. | 79 |
| Figura 21:Deff. por microondas a) Deff. del Tarwi asistida por microondas respecto al tiempo, b) Deff. en diagrama 3D..... | 83 |
| Figura 22: Relación entre difusividad efectiva y los tratamientos de microondas. a) Cuadro de medias de la Deff. por EAM, b) Deff. por tratamiento..... | 84 |
| Figura 23: Curva de Deff. del Tarwi asistida por ultrasonidos. a) Deff. por tratamiento, b) Deff. en diagrama 3D. | 87 |
| Figura 24. Deff. con ultrasonido de la lupanina. a) Relación entre difusividad efectiva y los tratamientos de ultrasonidos, b) Relación Deff. y tratamientos al tiempo 15 min. | 89 |
| Figura 25. Difusividad efectiva calculada por ecotipos. a) Comparación de medias de Deff. por ecotipo, b) Deff. por ecotipo. | 92 |
| Figura 26. Métodos de desamargado convencional en cuanto a la Deff. a) Comparación de medias, b) Relación Deff. Vs método de extracción convencional por el autor. | 95 |
| Figura 27: Difusividad efectiva de métodos de extracción convencional, microondas y ultrasonido.a) Comparación de medias de Deff., b) Relación Deff. vs método de extracción. | 97 |
| Figura 28: Solvente de los granos de Tarwi desamargados. a) Desamargado del Tarwi por microondas, b) Desamargado con ultrasonidos y c) Tarwi hidratado y congelado..... | 99 |
| Figura 29: Relación Puntaje Vs Juez..... | 101 |
| Figura 30: Dureza de las muestras de Tarwi a diferentes tratamientos. | 102 |
| Figura 31: Fracturabilidad de las muestras de Tarwi a diferentes tratamientos. | 103 |
| Figura 32: Calidad geométrica-lisa de las muestras de Tarwi a diferentes tratamientos. | 104 |

| | |
|--|-----|
| Figura 33: Calidad geométrica-rugosa de las muestras de tarwi a diferentes tratamientos. | 105 |
| Figura 34: Grasa apreciable de las muestras de Tarwi a diferentes tratamientos..... | 106 |
| Figura 35: Sensación residual- fácil de romper de las muestras de Tarwi a diferentes tratamientos. | 107 |
| Figura 36: Secuencia y ubicación de lupanina en el cromatograma..... | 108 |
| Figura 37: R- square de la lupanina..... | 109 |
| Figura 38: Relación de la lupanina extraída frente a las variedades y ecotipos. a) Comparación de medias entre ecotipos, b) Diagrama de barras del contenido de lupanina entre ecotipos..... | 115 |
| Figura 39. Tiempo de extracción de lupanina del Tarwi a diferentes métodos. a) Diagrama de barras del tiempo de desamargado, b) Curva exponencial de la diferencia en los tiempos de extracción..... | 121 |
| Figura 40. Relación entre metodologías de extracción en el contenido de lupanina. a) Gráfico 2D y b) Grafico 3D..... | 123 |
| Figura 41: Determinación de humedad. a) Peso de muestra y b) Humedad final..... | 142 |
| Figura 42: Desamargado por microondas..... | 142 |
| Figura 43: Desamargado por ultrasonidos. a) Ultrasonido de 40kHz-100W, b) Ultrasonido de 40kHz-27W y c) Ultrasonido de 28kHz-100W..... | 143 |
| Figura 44: Desamargado de ecotipos por ultrasonido. a) Ultrasonido con muestras del ecotipo Yunyuyo, b) Ultrasonido con muestras del ecotipo Seccelambra..... | 143 |
| Figura 45: Tarwi parcialmente desamargado. a) Tarwi asistido por microondas al tiempo 30 minutos, b) Tarwi asistido por ultrasonido al tiempo 30 minutos..... | 143 |
| Figura 46: Muestras del tarwi secas. a) Tarwi secados del ecotipo 1, b) Tarwi seco del ecotipo 2, c) Tarwi seco y molido..... | 144 |

| | |
|--|-----|
| Figura 47: Jueces desarrollando la prueba de textura..... | 144 |
| Figura 48: Extracción de alcaloides-preparación de la muestra centrifugado-neutralización. | 144 |
| Figura 49: Extracción de alcaloides-preparación de la muestra. a) Elución en el rotavapor, b) Muestras eluidas en fase líquida para el UHPLC..... | 145 |
| Figura 50: Preparación de las muestras para el UHPLC. | 145 |
| Figura 51: Equipo de UHPLC de la Escuela Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias – Sede Ayabacas-UNAJ..... | 145 |
| Figura 52: Representación del cromatograma del UHPLC. a) Cromatograma de muestras asistidas por microondas, b) Cromatograma de muestras asistidas por ultrasonido. | 147 |
| Figura 53: Relación de las variables independientes en la extracción de alcaloides del Tarwi por microondas. | 148 |
| Figura 54: Relación de las variables independientes en la extracción de alcaloides del Tarwi por ultrasonidos. | 149 |
| Figura 55: Relación de metodologías de extracción frente al contenido de lupanina y la Deff. | 150 |
| Figura 56: Relación entre metodologías de extracción. | 151 |
| Figura 57: Calibración de Standar de lupanina. | 152 |

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1: Imágenes obtenidas durante la ejecución de la investigación. 142

ANEXO 2: Análisis de varianza y comparación de medias para los tratamientos. 156

RESUMEN

La leguminosa Andina *Lupinus mutabilis* (Tarwi), un alimento nativo con alto contenido de proteínas y aceites. Sin embargo, la leguminosa requiere un tratamiento previo para su consumo, siendo necesario eliminar las sustancias antinutricionales como los alcaloides Quinolizidínicos (lupanina, esparteína, 13-hidroxi-lupanina), hace que su consumo y producción sea reducida, ya que la extracción genera mucho tiempo y costo. El objetivo de esta investigación es evaluar la cinética de extracción de alcaloides de dos ecotipos de Tarwi congelado utilizando métodos de extracción asistida con microondas (EAM) y ultrasonido (EAU) durante el desamargado, para luego determinar la difusividad efectiva, análisis cualitativo y cuantitativo del alcaloide para poder evaluar las diferencias respecto a la metodología convencional. Los ecotipos de Tarwi (Yunguyo y Seccelambra), previamente hidratadas durante 24 h y congeladas a -18°C son introducidas al microondas (270 W, 450 W y 630 W) y ultrasonido (40kHz: 100W, 40kHz: 27W y 28kHz: 100W) con una relación de agua y leguminosa de (5:1) con tres repeticiones, para ser secados posteriormente. El análisis del alcaloide extraído se determinó por cromatografía líquida de ultra alta presión (UHPLC) y se determinó la difusividad efectiva para su modelamiento y cinética de extracción con la segunda ley de Fick, para posteriormente ser sometido a una evaluación sensorial de prueba de textura para determinar las diferencias entre tratamientos. Los resultados mostraron que una EAM a 630 W generó una difusividad de lupanina máxima de $8.12 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ y de EAU a 40 kHz: 20W logró una difusividad máxima de $2.09 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$, siendo mayores significativamente que la extracción convencional de alcaloides Quinolizidínicos logrando una difusividad de $0.00693 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$, y resultando diferentes texturalmente. Concluyendo que el Tarwi congelado acoplado a una EAM y EAU presentan efectos significativos sobre la cinética de extracción de alcaloides Quinolizidínicos.

Palabras clave: *Lupinus mutabilis*, alcaloide Quinolizidínico, extracción, microondas, ultrasonido.

ABSTRACT

The Andean legume *Lupinus mutabilis* (Tarwi), a native food with a high content of proteins and oils worldwide. However, the grain requires a previous treatment for its consumption, being necessary to eliminate antinutritional substances such as Quinolizidine alkaloids (lupanine, sparteine, 13-hydroxylupanine among others), it makes its consumption and production reduced, since the extraction generates a lot time and cost. The objective of this research is to evaluate the alkaloid extraction kinetics of two frozen Tarwi ecotypes using microwave-assisted extraction (EAM) and ultrasound (UAE) methods during debittering, to later determine the effective diffusivity, quantitative and quantitative analysis. alkaloid in order to evaluate the differences with respect to the conventional debittering methodology. The Tarwi ecotypes (Yunguyo and Seccelambra), previously hydrated for 24 h and frozen at -18 ° C, are introduced to the microwave (270 W, 450 W and 630 W) and ultrasound (40kHz: 100W, 40kHz: 27W and 28kHz: 100W) with a water and seed ratio of (5:1) with three repetitions, to be dried later. The analysis of the extracted alkaloid was determined by ultra high pressure liquid chromatography (UHPLC) and the effective diffusivity for its modeling and extraction kinetics were determined with Fick's second law, to then be subjected to a sensory evaluation of texture test for determine the differences between treatments. The results show that an EAM at 630 W generated a maximum lupanine diffusivity of $8.12 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ and EAU at 40 kHz: 20W achieved a maximum diffusivity of $2.09 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$, being greater important than conventional extraction of Quinolizidine alkaloids achieving a diffusivity of $0.00693 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$, and resulting texturally different. Concluding that frozen Tarwi coupled to an EAM and UAE present significant effects on the kinetics of extraction of Quinolizidine alkaloids.

Keywords: *Lupinus mutabilis*, Quinolizidine alkaloid, extraction, microwave, ultrasound.

INTRODUCCIÓN

La leguminosa *Lupinus mutabilis* (Tarwi), es cultivada tradicionalmente en los Andes de Latinoamérica ocupando uno de los primeros lugares entre los alimentos nativos con mayor contenido de proteínas (50 %) y aceites (20 %) a nivel mundial. Sin embargo, al tener un porcentaje mayor de proteínas presenta mayor cantidad de alcaloides Quinolizidínicos en comparación a sus demás parientes como el *L. albus*, *L. angustifolius* y *L. luteus*. Por lo cual, la legumbre requiere un tratamiento previo para su consumo, siendo necesario eliminar estos alcaloides que le dan un sabor amargo como la lupanina, esparteína y 13-a-hydroxylupanine que se encuentran en mayor concentración, siendo estas causantes del que el consumo y producción sea reducida, puesto que el desamargado convencional genera mucho tiempo de hasta 7 días y cantidades considerables de agua hasta 48 veces la cantidad de Tarwi.

Existen estudios que se detallan posteriormente sobre mejoramiento de la técnica de desamargado convencional como de su composición y aprovechamiento de legumbre con la incorporación de otros componentes como sales, ácidos, alcoholes, levaduras entre otros. como también se han investigado muchas técnicas avanzadas para la extracción de compuestos bioactivos para mejorar la eficiencia de la extracción y superar las desventajas de las extracciones convencionales,

Es así que, si se ofrece al consumidor estas nuevas técnicas de desamargado que ayuden a reducir el consumo de solventes, tiempos de operación más cortos, buena reproducibilidad y mínima manipulación de las muestras. Mediante procesos tecnológicos como la extracción asistida por microondas (EAM) y la extracción asistida por ultrasonido (EAU) considerados como uno de los métodos más prácticos para la escala industrial debido a la disponibilidad de equipos, la operación conveniente y la alta eficiencia de extracción reduciendo hasta 6 veces el tiempo de extracción (Wani, Bishnoi, & Kumar, 2016; Chuyen, Parks, Nguyen, Roach, & Golding, 2018).

Estas nuevas formas para separación de componentes en condiciones extremas y no clásicas son actualmente áreas de desarrollo dinámico en investigación aplicada. La extracción con EAM, genera vibraciones del agua lo que causa aumentos de energía, gradientes de temperatura cortos y presión al evaporarse intracelularmente generando así alteraciones celulares (Vijay, Id, & Butler, 2018; Chemat *et al.*, 2010). En EAU el efecto de cavitación

favorece la liberación de los compuestos a extraer y mejora el transporte de masa debido al rompimiento de la pared celular por las implosión de las burbujas generadas (García, 2007). Un pretratamiento de congelación luego de la hidratación del Tarwi, con la aplicación de EAM y EAU, son capaces de acelerar los tiempos en la difusividad del alcaloide, como reducir la cantidad de agua necesaria para la extracción, beneficiando así al productor y a las empresas de lograr más posibilidades de aprovechamiento del Tarwi, mejorando los ingresos y la productividad del sector involucrado.

Es así que esta investigación tiene como objetivo de evaluar la cinética de extracción de alcaloides de dos ecotipos de Tarwi (Yunguyo y Seccelambra) congelado utilizando métodos de extracción como microondas (EAM) y ultrasonido (EAU) durante el desamargado, para luego determinar la difusividad efectiva, el análisis cualitativo y cuantitativo del alcaloide, para evaluar las diferencias respecto a la metodología convencional.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Lupinus mutabilis es considerado un alimento con alto valor nutricional, en las que destacan las proteínas y lípidos representando la mitad de su peso total, tiene un 44.3 % a 50 % de proteína, 16.5 % a 20 % de grasa, 28.2 % de carbohidratos, 7.1 de fibra, 3.3 % de ceniza y 7.7 % de humedad, (Jacobsen S., 2006). Por ende, al tener un porcentaje mayor de proteínas presenta mayor cantidad de alcaloides Quinolizidínicos en comparación de sus demás parientes como el *L. albus*, *L. angustifolius* y *L. luteus*. Es así que el grano requiere un tratamiento previo para su consumo, siendo necesario eliminar estos alcaloides que le dan un sabor amargo que son cerca de 70 alcaloides diferentes según Ruiz (1978), especialmente los pertenecientes a los tipos lupanina, esparteína y 13-hidroxilupanina, que llegan hasta un 5% del peso en grano por lo tanto estos compuestos se deben retirar antes de su consumo ya que pueden producir toxicidad por lupanina en una cantidad considerada (superior al 0.02 %) (Galek, Sawicka-Sienkiewicz, Zalewski, Stawinski, & Sychala, 2017).

Al respecto, se ha podido observar que existen problemas e inconvenientes al momento de la eliminación del alcaloide de los granos, para su extracción algunas publicaciones como Jacobsen (2006), indican una etapa de remojo del grano con duraciones que van desde las 18 horas a más y su eliminación completa comprende hasta en 7 días dependiendo del método de extracción convencional. Siendo estas causantes de que el consumo y producción sea reducida, puesto que el desamargado convencional genera mucho tiempo, mayores costos y cantidades considerables de agua. Por consiguiente, los derivados que pueden surgir luego son limitados. Llevándonos a la siguiente pregunta de investigación:

- ¿De qué manera influye la aplicación de microondas y ultrasonidos en la cinética de extracción de lupanina del Tarwi congelado, respecto a la metodología convencional?

1.2. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA

1.2.1. OBJETIVO GENERAL

- Evaluar la cinética de extracción de alcaloides del Tarwi previamente congelado, utilizando microondas y ultrasonido durante el desamargado.

1.2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar los parámetros cinéticos de extracción del alcaloide del Tarwi congelado por microondas.
- Determinar los parámetros cinéticos de extracción del alcaloide del Tarwi congelado por ultrasonido
- Determinar la difusividad efectiva del alcaloide del Tarwi, extraídas por microondas y ultrasonido, respecto a la convencional.
- Evaluar la diferencia sensorial e instrumental entre la metodología convencional con los tratamientos usados en cuanto a la extracción del alcaloide.

1.3. JUSTIFICACIÓN

Existen estudios sobre mejoramiento para la técnica de desamargado convencional como de su composición y aprovechamiento de la legumbre, como también se han investigado muchas técnicas avanzadas para la extracción de compuestos bioactivos para mejorar la eficiencia de la extracción y superar las desventajas de las extracciones convencionales. Es así que si se ofrece a la industria estas nuevas técnicas de desamargado que ayuden a reducir el consumo de solventes, energía, tiempos de operación más cortos, buena reproducibilidad y mínima manipulación de las muestras preservando el medio ambiente para asegurar la sostenibilidad (*Green Food Processing*) (Chemat *et al.*, 2017). Mediante procesos tecnológicos como la extracción asistida por microondas (EAM) y la extracción asistida por ultrasonido (EAU), considerados como uno de los métodos más prácticos para la escala industrial debido a la disponibilidad de equipos, la operación conveniente y la alta eficiencia de extracción (Wani, Bishnoi & Kumar, 2016; Chuyen, Parks, Nguyen, Roach, & Golding, 2018).

Estas nuevas formas de separación de componentes en condiciones extremas y no clásicas es actualmente un área de desarrollo dinámico en investigación aplicada (Chemat *et al.*, 2010). La extracción con el EAM, causa vibraciones del agua lo que causa aumentos de energía, gradientes de temperatura cortos y presión al evaporarse intracelularmente generando así alteraciones celulares Chemat *et al.* (2010) y Vijay, Id, & Butler (2018), en la EAU el efecto de cavitación favorece la liberación de los compuestos a extraer y mejora el transporte de masa debido al rompimiento de la pared celular por las implosión de las burbujas generadas (García, 2007), como se lograron extraer alcaloides y componentes bioactivos a partir de *Stephania rotunda Lour v Stephania sinica Diels* y *Stephania cambodica* (Chhavarath *et al.*, 2017; Desgrouas *et al.*, 2014; Xiong *et al.*, 2016). De esta forma la aplicación de congelamiento del Tarwi hidratado seguida de una acoplación de EAM y EAU, son capaces de acelerar la cinética de la difusividad del alcaloide, como reducir la cantidad de agua necesaria para la extracción, beneficiando así al productor y a las empresas de lograr más posibilidades de aprovechamiento del Tarwi (*Lupinus mutabilis*), mejorando los ingresos y la productividad del sector involucrado.

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. TARWI

2.1.1. LUPINUS

Un género relativamente amplio y uno de los más extensos geográficamente, con una rica diversidad de especies que se dividen en dos grupos principales: mediterráneo/norte y África como “viejo mundo” y América del Norte y Sur “nuevo mundo” según Kole (2011), donde el término se presume de la antigüedad grecorromana de la palabra griega "λύπη" ("ly'pe") como “pena” debido a las sustancias amargas causadas por el grano (Götz, 2014).

Se llegaron a conocer un total de 450 especies de *Lupinus* en todo el mundo, 200-300 son de América del Sur, y solo cuatro de estas especies han sido domesticadas con intereses comerciales y agronómicos: *Lupinus albus* (lupino blanco), *Lupinus angustifolius* (estrecho hoja o lupino azul), *Lupinus luteus* (lupino amarillo) y *Lupinus mutabilis* (lupino andino) (Götz, 2014; Reinhard *et al.*, 2006). Este último es la única especie de cultivo en la región, domesticado independientemente de los cultivos de lupino del viejo mundo en el mediterráneo, las poblaciones de *Lupinus mutabilis* existen en forma semi-doméstica, con vainas que no se rompen, semillas grandes y permeables, reducción de la pigmentación de la semilla y más o menos un ciclo de vida anual (Hondelmann 1984; Trugo, von Baer, & von Baer 2016).

Los *Lupinus* del nuevo mundo, se distribuyen a través de un amplio rango de climas incluyendo alpinos, templado y sub tropicales (Trugo, Baer, & Baer, 2003). Son considerados el centro de diversidad, entre ellas el norte y Centroamérica, los Andes de América del Sur y el Atlántico de Sur América (Kole, 2011). En la Figura 1, se muestra la distribución aproximada del *L. mutabilis* del nuevo mundo.

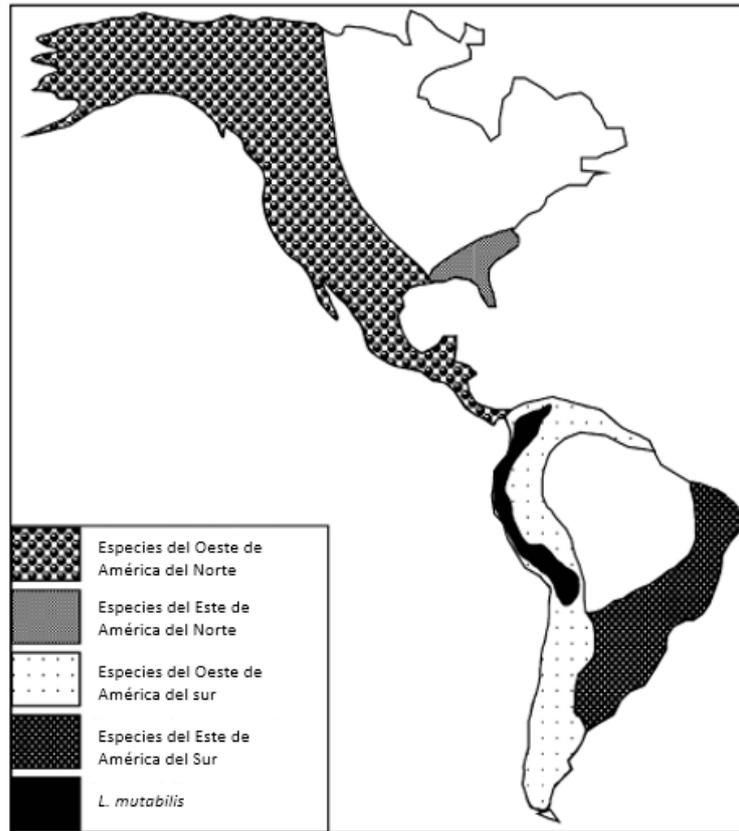


Figura 1: Distribución aproximada de *L. mutabilis* del nuevo mundo.

FUENTE: (Kole, 2011).

Gross (como se citó en César, 2012), especula que “el Perú ya se había cultivado *Lupinus* desde la época incaica, cuando se encontró en las tumbas de la cultura nazca, durante la conquista española”. Siendo así el país con mayor superficie de cultivo, en comparación a Bolivia y Ecuador según el foro presentado por (Mercado, 2018).

Las cuatro principales especies de *Lupinus* cultivadas a nivel mundial son, *Lupinus albus*, *Lupinus luteus*, *Lupinus angustifolius* y *Lupinus mutabilis* como se muestra en la Figura 2 (Carvajal-Larenas, Linnemann, Nout, Koziol, & van Boekel, 2016).

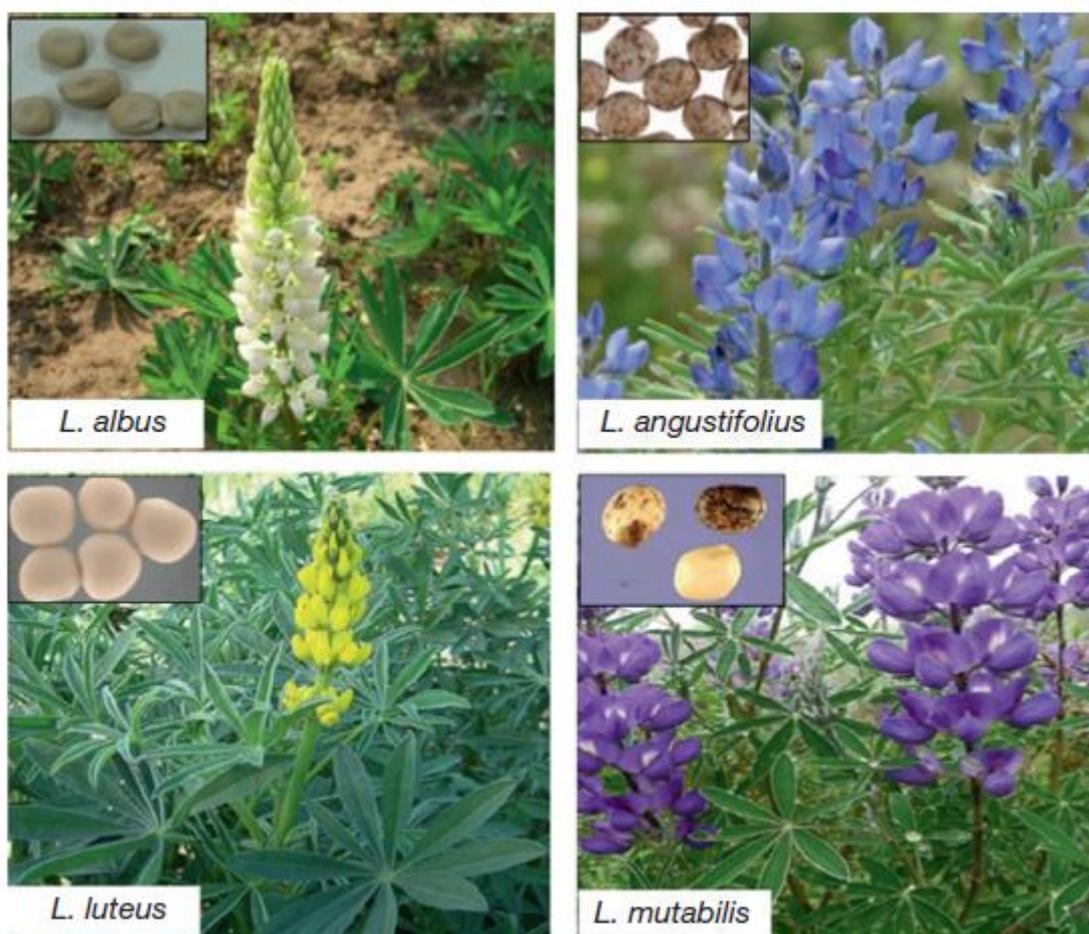


Figura 2: Principales especies de *Lupinus* cultivadas.

FUENTE: (Islam & Sciences, 2016).

La producción de *Lupinus* en el Perú es de 16481 toneladas en el 2018 según FAO (2020), Siendo el Perú con mayor superficie de cultivo, en comparación a Bolivia con 1895 ha, Ecuador con 5974 ha según el foro presentado por (Mercado, 2018). En el Perú está centrada en las regiones de Amazonas, Ancash, Apurímac, Ayacucho, Cajamarca, Cusco, Huancavelica, Huánuco, Junín, La Libertad y Puno, con una superficie aproximada del cultivo en 10628 ha y un rendimiento promedio entre 1335 - 2232 kg/ha a nivel nacional (Mercado, 2018; Tapia, 2015).

2.1.2. TAXONOMIA

Las investigaciones de Chirinos (2015) y Von-Baer, Hartmut, & Feldheim (1979), indican que existe una problemática en relación a la definición taxonómica de esta especie. El primero que la describió fue Sweet en 1825, quien estudió una planta del jardín de Bury Hill

(Hatzold, Elmadfa, Gross, Wink, & Hartmann, 1983). Además, en el caso de las especies de *Lupinus* del “nuevo mundo”, ocurre hibridaciones interespecíficas, lo que también se ha observado en *L. mutabilis*. Esto hace que la variabilidad genética del Tarwi sea mayor, por lo que es indispensable una nueva definición taxonómica (Camarena *et al.*, 2012; Chirinos, 2015).

El *L. mutabilis*, conocido también como Tarwi, Tauri, Tarhui, Chocho, Chuchus, Ccequilla y *Andean lupin* (Mercado 2018; Trugo *et al.* 2003). Muestra una amplia diversidad genética de la planta con la adaptación a suelos, precipitación, temperatura, altitud y periodo vegetativo, por lo consiguiente varía en precocidad, contenido en proteínas, aceites, alcaloides, rendimiento y tolerancia a plagas y enfermedades (Sve-E. Jacobsen & Mujica, 2006; Trugo *et al.* 2003). El color del grano (entre blanca, gris, marrón y otras), planta y flor variable (blanco, amarillo púrpura, azul) dependiendo de la variedad y ecotipo (Tapia, 2015). En la región andina compuesta por Perú, Ecuador y Bolivia se han identificado 83 especies del género *Lupinus* como se ve en la Figura 3 (Falconí, 2012; Sve-E. Jacobsen & Mujica, 2006).

El tamaño de la planta oscila entre 0.5 y 2 m de altura con una raíz pivotante profunda que puede alcanzar 3m de profundidad (Masabanda Paucar, 2016). El grano preferido es el cuboide oval blanco, pero existe una variación en las formas de la semilla como elipsoidal y con formas definidas en forma cuadrática, la distribución secundaria del color en la semilla de los cultivares es variante dependiente del lugar de procedencia (Tapia, 2015).



Figura 3: Ecotipos de Tarwi.

FUENTE: (Falconí, 2012).

Clasificación sistemática: Lupino

Clase: dicotiledónea

Orden: rosales

Familia: leguminosa (fabaceae)

Sub familia: papilionáceas

Género: *Lupinus*

Especie: *mutabilis*

Nombre científico: *Lupinus mutabilis*

FUENTE: (Sanca, 2015; Tapia, 2015).

El Lupino Andino es considerado como enemigo de nematodos, ayuda a reducir la incidencia de nematodos en campos de cultivo (Galek *et al.*, 2017). Además de ser un fijador de nitrógeno atmosférico en cantidades apreciables de hasta 100 kg/ha, restituyendo la fertilidad del suelo (S. E. Jacobsen & Mujica, 2006).

En el Perú existen varios ecotipos desde el norte: Conocido como “chocho” en Cajamarca, La Libertad y Ancash; “Tarwi” en el centro Cusco, Abancay, Huancavelica y Ayacucho; zona del altiplano alrededor del Lago Titicaca como “Tauri”, debido a la altitud en la que se encuentran son una de las pocas leguminosas domesticadas en los andes (Tapia, 2015).

Su producción en el Perú según MINAGRI 2013, está en la región de la Libertad 33.2 %, Cusco con un 18.6 % y Puno con 16.3 % de la producción total citado por (Castro, Abarca, Gatti, & Estrada 2013). En la región Puno se cultiva principalmente en los alrededores del lago Titicaca, desde Ilave hacia la frontera con Bolivia en Desaguadero (Jacobsen & Mujica, 2008).

2.1.3. COMPOSICION NUTRICIONAL

L. mutabilis tiene hasta 50 % de proteína contenido y hasta 20 % de contenido de aceite en el grano y aún más cuando estos son desamargados (Gutiérrez, Ana; Infantes, Marcos; Pascual, Gloria; Zamora, 2016; Sanca, 2015; Jacobsen & Mujica, 2008). La proteína es rica

en cisteína y relativamente rica en lisina, pero tiene una deficiencia de metionina (Galek *et al.*, 2017).

Kole (2011) indica, que *L. mutabilis* presenta mayores cantidades en proteína respecto al *L. albus*, *L. luteus* y *L. angustifolius* de esta forma la cantidad promedio de aminoácidos con mayor porcentaje esta la arginina 4.6%, leucina 2.9%, lisina 2.56 % y de más detallados por (Pettersson, 2004; Trugo *et al.*, 2016). En la Tabla 1, se muestra la composición nutricional del grano entero.

Tabla 1: Composición nutricional del Tarwi.

| Componente | Valor (g/100g m.s.) |
|----------------------|----------------------------|
| Humedad | 11.5 ± 0.03 |
| Grasa | 21.5 ± 0.05 |
| Proteínas | 53.2 ± 0.07 |
| Fibra | 18.4 ± 0.01 |
| Cenizas | 1.9 ± 0.00 |
| Carbohidratos | 23.4 ± 0.10 |

FUENTE: (Gutiérrez *et al.*, 2016).

2.1.4. ALCALOIDES

Los alcaloides están ampliamente distribuidos en el reino vegetal, constituyen un grupo de numerosos compuestos secundarios nitrogenados (derivadas biosintéticamente de aminoácidos) que son aislados tradicionalmente de plantas vasculares (Fattorusso & Tagliatalata-Scafati, 2008; Ringuelet & Sonia, 2013). De la ornitina y lisina: dentro de los cuales están los alcaloides Tropánicos, Pirrolizidínicos, Quinolizidínicos y los Peperidínicos ver Figura 4 (Wink, 1993).

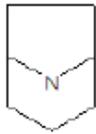
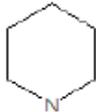
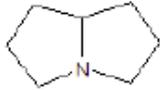
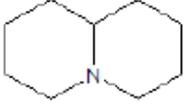
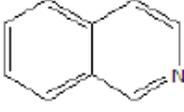
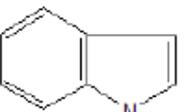
| NÚCLEO ALCALOÍDICO | ESTRUCTURA | PRECURSOR BIOSINTÉTICO | EJEMPLO |
|--------------------|---|------------------------|--|
| PIRROLIDINA |  | ORNITINA | NICOTINA |
| TROPANO |  | ORNITINA | ATROPINA COCAÍNA |
| PIPERIDINA |  | LISINA | CONÍNA |
| PIRROLIZIDINA |  | ORNITINA | RETRONECINA |
| QUINOLIZIDINA |  | LISINA | LUPININA |
| ISOQUINOLEÍNA |  | TIROSINA | CODEÍNA MORFINA |
| INDOL |  | TRIPTOFANO | PSILOCIBINA RESERPINA ESTRICNINA |

Figura 4: Estructura de algunos de los núcleos alcaloídicos más sencillos.

FUENTE: (Ringuelet & Sonia, 2013).

La mayoría son de carácter básico, cristalinos, aunque algunos forman precipitados amorfos y otros pocos son líquidos a temperatura ambiente (como nicotina, la conína y la esparteína), no tienen olor, son amargos y en general incoloros (aunque también hay excepciones, como

la berberina y la sanguinarina). Los alcaloides de lupino según Ringuélet & Sonia (2013), están clasificados dentro de los oxigenados cuaternarios sólidos a temperatura ambiente, fijos y cristalizables (Fattorusso & Taglialatela-Scafati, 2008).

Alcaloides Quinolizidínicos (AQ): llamados así por su estructura de anillo de Quinolizidina dentro de este grupo están las familias de la *Fabaceae*, *Chenopodiaceae*, *Ranunculaceae*, *Solanaceae*, *Berberidaceae* y *Rubiaceae*. Alguno de estos que causan toxicidad como la esparteína, lupanina (Frick, Kamphuis, Siddique, Singh, & Foley, 2017; Ringuélet & Sonia, 2013).

Los alcaloides son producidos intracelularmente por los cloroplastos de las hojas que se acumula principalmente en la vacuola y son distribuidos por toda la planta a través del floema y almacenado en células epidérmicas y semillas, por consiguiente existe mayor diversidad de alcaloides en las hojas que en las semillas (Waksmundzka-Hajnos & Sherma, 2011; Wink, Schiebel, Witte, & Hartmann, 1982; Mende, Wink, Biologie, & Braunschweig, 1987). Nuevos enfoques ya sea en genética inversa para identificar y comprender, la biosíntesis de alcaloides Quinolizidínicos detalladamente dentro de la planta facilitarían para el desarrollo de genotipos con bajos niveles de alcaloides en la semilla mientras se mantienen niveles foliares suficientes para evitar daños por plagas (Kaiser *et al.*, 2020; Rubiales *et al.*, 2017).

Se han reportado más de 170 estructuras de alcaloides Quinolizidínicos (Wink, 1993). Las variedades de lupino amargo tienen mayor contenido de alcaloides que varía entre 0.5 % – 6 %, en comparación a las variedades dulces que presentan alrededor de un 0.02 % (Resta, Boschin, D'Agostina y Arnoldi, 2008; Zhong *et al.*, 2018).

El contenido de alcaloides del *Lupinus mutabilis* varía desde 0.07 hasta 4.5 g/100g, (Carvajal-Larenas *et al.* 2016; Trugo *et al.* 2016). Dependiendo de las especies, ecotipos, variabilidad genética, factores ambientales y ubicación geográfica (Maknickiene, Asakaviciute, Baksiene, & Razukas, 2013; Panter, Welch, & Gardner, 2017).

Dentro de las cuales destaca la lupanina, seguido de la esparteína 12.6 % y la 13-hidroxilupanina 9.5% (Carvajal-Larenas *et al.*, 2016; Martínez, 2018).

- LUPANINA

Se encuentra en mayor concentración (46-64.4%), su fórmula general es (C₁₀H₁₉N₂O) ver Figura 5, tiene un peso molecular de 248.36 g/mol, soluble en: Agua, cloroformo, éter, alcohol e insoluble en éter de petróleo (Carvajal-Larenas *et al.*, 2016; Hindler y Huisa, 2017; Wink *et al.*, 1995).

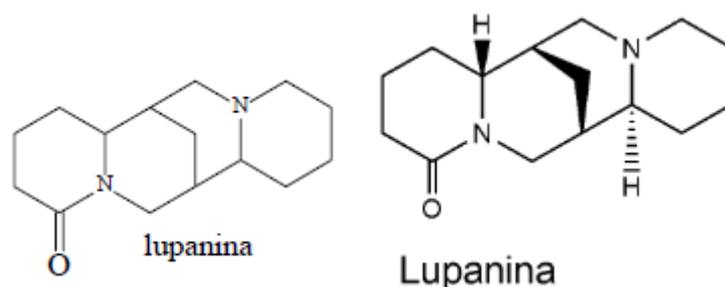


Figura 5: Fórmula molecular de la lupanina.

FUENTE: (Ringuelet & Sonia, 2013).

En uno de los recientes estudios realizados por Cortés-Avenidaño *et al.* (2020), la lupanina como alcaloide principal en el *Lupinus mutabilis* alcanzo una concentración de 2.5-5.2 g/100g MS, representando el 77.2% de alcaloides totales.

- ESPARTEÍNA

Según Frick *et al.* (2017) y Wink *et al.* (1995), se encuentra en menor porcentaje respecto a la lupanina en un promedio del 16 por ciento, la esparteína también llamado lupinidina (C₁₅H₂₆N₂) ver Figura 6, presenta un peso molecular de 243.36 g/mol, de textura espesa, oleoso e incoloro (Mendez, 2008).

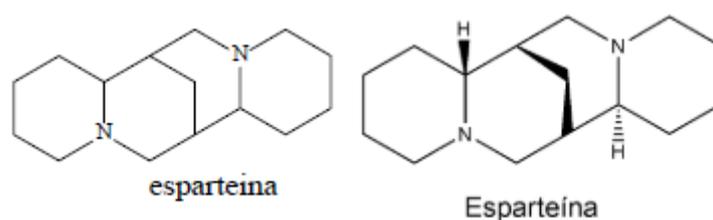


Figura 6: Fórmula molecular de la esparteína.

FUENTE: (Ringuelet & Sonia, 2013).

- HIDROXILUPANINA

De estructura molecular ($C_{15}H_{24}N_2O_2$) ver Figura 7, con peso molecular de 264 g/mol representan un 7-12 % del total de alcaloides, dependiendo de la ubicación del grupo hidroxilo, estos isómeros pueden ser 4-Hidroxilupanina y 13 hidroxilupanina (Frick *et al.*, 2017; Wink *et al.*, 1995).

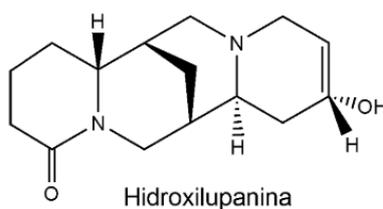


Figura 7: Fórmula molecular de hidroxilupanina.

FUENTE: (Ringuelet & Sonia, 2013).

2.1.5. UTILIZACIÓN

Según Gade (2015), el *Lupinus mutabilis* fue desplazada por el haba (*Vicia faba*) debido a que este frijol ancho no requiere procesamiento previo para su consumo.

El uso del lupinos está muy diversificado: Comenzando desde el grano entero, hasta la producción de harina de lupino, leche de lupino, aceite de lupino, quark lupino, yogur de lupino, postres entre otros ingrediente de varios productos, bocadillos y platillos principales (Carvajal-Larenas *et al.*, 2016; Sve-E. Jacobsen & Mujica, 2006). A escala industrial la compañía “Prolupin”, separa el *lupin protein isolate* (LPI) que contiene más del 90 % de la proteína en materia seca (Prolupin, s.f.), y en cuanto a desarrollo de productos a partir del lupino como harinas en panificación llegando a porcentajes de sustitución hasta un 15- 20 % (S. E. Jacobsen *et al.* 2006; Trugo *et al.* 2003).

En Perú su producción es destinada principalmente a la exportación hacia Ecuador, España y Estados Unidos como lo menciona Mercado (2018), como materia prima mas no como un producto transformado. Asimismo existe una proyección de producción hasta el 2020 a 42,120 toneladas y una exportación de 3,917 toneladas de grano entero amargo (Castro *et al.*, 2013).

2.1.6. VARIEDADES

En la zona del Altiplano se encuentran variedades y cultivares más concurrentes; en Bolivia: Toralapa, Tarabuco; en Perú: Yunguyo, Sacacatani, Altagracia, Kayra, Carlos Ochoa, SCG 9, SCG 25, SLP 1 al SLP 5 (líneas precoces) y en Chile: Inti (Gross *et al.*, 1988; S. E. Jacobsen & Mujica, 2006). En la Tabla 2, se presenta los ecotipos de *L. mutabilis*.

Tabla 2: Ecotipos y variedades de Tarwi (*Lupinus mutabilis*) cultivadas en las zonas alto Andinas del Perú.

| ECOTIPO | REGIÓN | LIBERADO POR INSTITUCIÓN |
|------------------------------|---------------|------------------------------------|
| Yunguyo | Puno | INIA |
| Andenes | Cusco | INIA |
| H6 | Junin | PLGO-UNALM |
| Altagracia | La Libertad | Agricultores |
| Cholo fuerte | Áncash | CEDEP |
| Cusco 1 | Cusco | UNSAAC |
| Cusco 2 (Tarwi dulce) | Cusco | UNSAAC |
| PLGO-1 | Huánuco | Universidad Nac. Hermilio Valdizán |
| Cajamarca | Cajamarca | Universidad Nac. De Cajamarca |

FUENTE : (Tapia, 2015).

Con respecto a las variedades comerciales del Perú, existen unas 3 o 5 variedades seleccionadas provenientes del Cusco (K'ayra) SCG – 25, de Huancayo, Mantaro (HI, H6), La Libertad, que han alcanzado rendimientos sobre los 3000 kg / ha. Sin embargo, como se muestra en la Tabla 2. es difícil encontrar un material puro (Tapia, 2015). En la región de Puno se mantienen únicamente ecotipos caracterizados por la Universidad Nacional del Altiplano donde 6 de los 14 ecotipos evaluados por el Dr. Ángel Mujica fueron de Puno (Cadema, Gandarillas, Ana, & Ravelo, 2019).

La colección de germoplasma en el Perú son alrededor de 1200 accesiones, con períodos vegetativos de 140-230 días, con rendimientos de semilla de 800-2700 kg / ha (Jacobsen & Mujica, 2008).

2.1.7. TOXICIDAD DE LOS ALCALOIDES

En los humanos en consumo de los alcaloides en concentraciones elevadas están asociados con las enfermedades hepáticas y bloqueo neuromuscular causado por la inhibición de impulso de transmisión ganglionar del sistema nervioso simpático, una acción excitatoria sobre el sistema nervioso central (SNC), causando convulsiones, temblores, paros respiratorio y cardiaco generando la muerte (Carvajal-Larenas *et al.*, 2016; Ganzera, Krüger, & Wink, 2010; Ringuelet & Sonia 2013). Siendo los niños más sensibles a problemas gastrointestinales (Magalhães *et al.*, 2017). Relacionados por la presencia de lupanina, lupinina e hidroxilupanina, que son de mayor concentración dentro de los alcaloides Quinolizidínicos en el lupino (Ringuelet & Sonia 2013; Trugo *et al.* 2003).

Mientras que en los animales las plantas venenosas como los *Lupinus* debido al grado de toxicidad que presentan, pueden tener un gran impacto negativo en la reproducción animal, generando efecto en la espermatogénesis, ovogénesis, libido, fertilización, desarrollo neonatal entre otros (Panter *et al.*, 2017).

Un límite de seguridad establecido por las autoridades sanitarias de Reino Unido, Francia, Australia y Nueva Zelanda a partir del *New Zealand Food Authority* (2001) Magalhães *et al.* (2017), indican que una dosis superior a 200 mg/kg en alimentos o en su defecto > 30 mg / kg del peso corporal (pc) puede ser mortal (como se citó en Carvajal-Larenas *et al.*, 2016; Boschini, Annicchiarico, Resta, D'Agostina, & Arnoldi, 2008). Por ende se debe evitar el consumo del lupino en concentraciones mayores de lo indicado anteriormente en base seca (Islam & Sciences, 2016).

Por el contrario cabe rescatar que algunos alcaloides presentan defensas como actividad antiviral (esparteína), bactericidas (lupinina, lupanina, angustifolina), nematocidas (anagirina, matrina y citisina), atrayentes o repelentes (Ringuelet & Sonia, 2013). A la vez estos alcaloides al ser solubles en agua, son relativamente fácil de eliminar del animal o cuerpo humano (C. Jiménez-Martínez *et al.*, 2001).

2.1.8. MORFOLOGÍA

La morfología externa del *Lupinus Andino* presenta forma dicotiledónea, comprende el 12 % del peso total de la semilla (Petterson, 2004). Presenta una estructura llamada hilum y fisura hilar donde se demostró como la entrada principal de agua al grano (Alberto Claudio Miano, García, & Augusto, 2015). Como se observa en la Figura 8.

La testa de la semilla está compuesta principalmente por polisacáridos estructurales: celulosa, hemicelulosas y pectinas (Petterson, 2004).

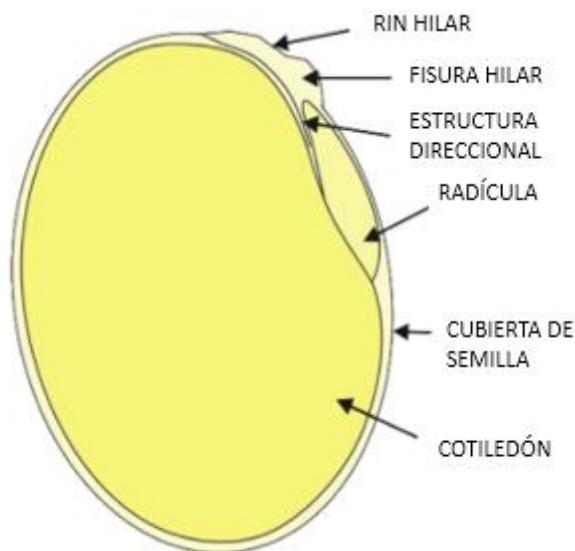


Figura 8: Morfología de *Lupinus mutabilis*

FUENTE: (Alberto Claudio Miano *et al.*, 2015).

2.1.9. HIDRATACIÓN

Es la tendencia del agua, a asociarse con diversos grados de tenacidad con sustancias hidrofílicas. El grado y la tenacidad de la absorción del agua depende de muchos factores, como la naturaleza del componente no acuoso, composición salina, pH y temperatura

(Castillo, 2002). Las técnicas que limitan la hidratación del grano son las soluciones osmóticas, partículas sólidas o por cantidades controladas de agua (Sánchez, Orta, & Muñoz, 2001).

La hidratación artesanal que se efectúa en las zonas altoandinas, el Tarwi se introduce en bolsas de malla de pescar (anchovetera) que permite la expansión del grano (2.2 veces) por un periodo de 12 a 18 horas, en una poza de agua fría (Tapia, 2015). Como un tratamiento previo para los procesos de cocción, extracción, germinación y molienda húmeda entre otros (Miano *et al.*, 2015).

Un estudio realizado por Miano *et al.* (2015), correlacionando la morfología, comportamiento de hidratación y modelos matemáticos para explicar y predecir la cinética de hidratación de los granos de lupino andino (*L. mutabilis*), demostró que la cubierta del grano es la causa principal de la cinética de la hidratación. Una vez hidratada la cubierta del grano la permeabilidad cambia surgiendo la difusión en el grano (Alberto C. Miano, Rojas, & Augusto, 2019).

Según Miano *et al.* (2015), cuanto mayor es la temperatura del agua de remojo, ayuda a disminuir la viscosidad y sus poros se expanden (cotiledón), lo que permite una mayor retención de agua.

De los polisacáridos sin almidón (PSA) presentes en la pared celular, una porción del 5 % es soluble en agua, presenta un efecto antinutricional debido a su naturaleza viscosa (Petterson, 2004). En otro sentido uno de los atributos importantes del PSA insoluble es su capacidad para retener grandes cantidades de agua, aproximadamente ocho veces en peso para los lupinos.

2.1.10. DESAMARGADO

a. DESAMARGADO CONVENCIONAL.

Según Brücher (1968), las personas de la montaña anteriormente las semillas de lupino remojaban por varias semanas en bolsas en arroyos o empapadas en contenedores, y el sobrenadante de color marfil amarillo lo usaban como insecticida (citado por Kole, 2011), o como repelente de plagas cuando sea necesario (S. E. Jacobsen & Mujica, 2006).

Actualmente se sigue adaptando estos procesos de desamargado convencional hasta que no se presente otra alternativa eficiente y económica para obtener variedades libres de alcaloides en las semillas de Tarwi: Hidratación en remojo acuoso entre 10 a 24 horas a temperatura ambiente, después el grano es llevado a cocción en agua que va desde los 60 minutos hasta las 5 horas en ebullición, con un cambio de agua de 30 minutos o en otras sumergidas en sacos para ser llevadas al río para su lavado durante 72 a 120 horas o más hasta perder su amargor, para luego ser secado por un tiempo de 20 horas promedio para su uso futuro o en su defecto su consumo inmediato (Carvajal-larenas *et al.*, 2015; Castro *et al.*, 2013; Fernández Cheza, 2017; Gutiérrez *et al.*, 2016; INIAP, 2001; Tapia, 2015; Trugo *et al.*, 2003; Villacrés, Álvarez, & Rosell, 2020).

Según el Dr. Antonio Garandillas miembro de la fundación “Promoción e Investigación de Productos Andinos” conocido por sus siglas PROINPA, indica que el costo de eliminar los alcaloides es alto, se consume mucha agua y toma varios días. Una vez eliminado el alcaloide, el tiempo de vida del grano es muy corto de 2 a 3 días, se torna muy susceptible a pudriciones por bacterias, esto exige tener una cadena de frío para su comercialización (Cadema *et al.*, 2019).

Hasta la fecha se muestra que, no se ha podido lograr la difusividad por un proceso ya sea biológico u acuoso en menos de dos días y siempre se utilizan cantidades de agua desde 8 a 40 veces el peso del grano (Carvajal-Larenas *et al.*, 2016). En la Tabla 3, se muestra los tipos de extracción de alcaloides registrados por varios autores desde tiempos anteriores hasta la actualidad, donde los procesos van mejorando usando nuevas tecnologías y compuestos que ayuden al desamargado del Tarwi.

Tabla 3: Desamargado de Tarwi según diversos autores.

| Tipo de extracción | Sustrato general | Sustrato específico | Material de proceso | Reducción de alcaloide (%) | Tiempo usado | Relación agua: Tarwi | Energía usada | Cuantificación de alcaloides | Referencia |
|--------------------------------|--|--|--|----------------------------|--------------|----------------------|----------------------------|------------------------------|-------------------------------------|
| Extracción agua fría | <i>Lupinus mutabilis</i> vs. Keyra 19.4 g ⁻¹ | Descascarado, semilla partida | Agua fría | 95.4 | 72 h | - | 0.5 horas, 90°C más lavado | Método gravimétrico | (Torres-Tello <i>et al.</i> , 1980) |
| Extracción con solución | Alkaloid/kg <i>Lupinus mutabilis</i> 42 g alkaloid/ kg | Lupinus desgrasado | Hexano: sodio carbonato (15%), clorhídrico ácido (5%) | 80–90 | 3 h | - | 3hr a 60 °C | Método trimétrico | (Ortiz and Mukherjee, 1982) |
| Extracción básica | <i>Lupinus mutabilis</i> 20 g alkaloid/ kg | Descascarado, agrietado, granulado (malla 100) | NaOH. Centrifuge | 99.9 | >0.7 h | 1:60 | 0.7h, 60°C | Método trimétrico | (Aguilera <i>et al.</i> , 1983) |
| Extracción con solución | <i>Lupinus mutabilis</i> 19.4 g alkaloid/ kg | Semilla entera | | 99.9 | 6 h | - | 6 hr ebullición | HPLC | Jimenez Martinez 2003 |
| Extracción alcohólica | <i>Lupinus mutabilis</i> | Semilla seca (malla 70-100) | Fluido supercrítico: CO ₂ 10%, etanol absoluto, 80 atm, 60 °C | 39.8 mg / 1 g de semilla | 0.33 h | 1:24 | 0.3 hr, 60 °C | Alta resolución GC | (Nossack <i>et al.</i> , 2000) |

| | | | | | | | | | |
|------------------------------------|--------------------------|----------------|-----------------------------|-------|------------|--------|---|---------------------|----------------------------------|
| Extracción convencional | <i>Lupinus mutabilis</i> | Semilla entera | Agua fría/caliente | 97.4 | 5 d | - | 0.5 a 2hr ebullición | (von Baer, 1979) | (Villacres <i>et al.</i> , 2000) |
| «continuación» | <i>vinus 'abilis</i> | Semilla entera | Agua caliente | 93.3 | 90 | 1:63 | 90 horas, 40°C | - | (Caicedo <i>et al.</i> , 2001) |
| Extracción convencional | <i>Lupinus mutabilis</i> | Semilla entera | Agua fría | 99 | 5 d | 1:6 | cada 6h cambio de agua | - | (Jacobsen y mujica, 2006) |
| Extracción convencional | <i>Lupinus mutabilis</i> | Semilla entera | Agua fría/caliente | 99.2 | 42 h | 1:9.36 | 6 hr ebullición + lavados | (von Baer, 1979) | (Carvajal, 2013) |
| Extracción convencional | <i>Lupinus mutabilis</i> | Semilla entera | Agua fría | 95-98 | 6 d | 24:1 | cada 24h cambio de agua | Purpura bromocresol | (Sanca,2015) |
| Extracción convencional | <i>Lupinus mutabilis</i> | Semilla entera | Agua fría/caliente | 99.8 | 48.5 h | 1: 9 | 10 cambios de agua | (von Baer, 1979) | (Gutierrez, 2016) |
| Extracción térmica salina | <i>Lupinus mutabilis</i> | Semilla entera | Agua fría/caliente/NaCl | 93.4 | 50 h | 1:19 | 1hr | (von Baer, 1979) | (Villacres, 2020a) |
| Extracción por fermentación | <i>Lupinus mutabilis</i> | Semilla entera | <i>Rhizopus oligosporus</i> | 93.51 | 4. 09 días | - | Ebullición + lavado 60°C 2h (horno de aire forzado) | (von Baer, 1979) | (Villacres, 2020b) |
| Extracción convencional | <i>Lupinus mutabilis</i> | Semilla entera | Agua fría/caliente | 99.9 | 5.04 días | 1:6 | 1hr Ebullición + lavado | Gas chromatography | (Cortés-Avendaño, 2020) |

Los tratamientos químicos pueden reducir el contenido de alcaloides (hasta concentraciones altas de 4.2 %), pero el daño que genera es amplio hasta un 13 % en sólidos (Carvajal-Larenas *et al.*, 2016). Por lo que el tratamiento acuoso es uno de los métodos más utilizados con las que se trabaja a escalas industriales, reduciendo el contenido de alcaloides sin generar cambios de su forma natural usando varias cantidades de agua, siendo estas reutilizables con fines de insecticida y plaguicida (Tapia, 2015).

En el Perú la Norma Técnica Peruana (NTP 205.090) indica, que el porcentaje total de alcaloides que debe tener el grano desamargado para el consumo es de 0.02 a 0.07 % en base seca (NTP, 2019).

2.2. CONCENTRACIÓN DE ALCALOIDES / SEPARACIÓN DE ALCALOIDES

Existen extracciones químicas para aislar los alcaloides antes de su caracterización, consisten en un tratamiento base que convierte las sales en alcaloides libres, que estos al ser solubles en solventes orgánicos, se pueden disolver y recuperar fácilmente con hexano, cloroformo, diclorometano, soluciones básicas y de alcohol mixto (Carvajal-Larenas *et al.*, 2016; Ringuélet & Sonia, 2013).

2.2.1. MÉTODOS DE CUANTIFICACIÓN

Para Von Baer *et al.* (1979), existen tres métodos de cuantificación rápida de alcaloides totales fotométricos, titrimétrico y para la determinación más precisa de alcaloides individuales es la cromatografía.

a. TITULACIÓN

Uno de los métodos de cuantificación más usados es la descrita en la Norma técnica Peruana (NTP 205.090:2018) de Leguminosas: Tarwi o chocho - Grano desamargado (INACAL, 2019). Donde además de indicar los requisitos fisicoquímicos y microbiológicos que debe cumplir el grano para el consumo humano hace referencia para la determinación de alcaloides basadas en el autor Von-Baer *et al.* (1979), usando óxido de aluminio, hidróxido de potasio, pasando por una centrifugación junto a la muestra con cloroformo y de más reactivos y procesos. Esta metodología que al final se basa en la titulación considerando como principal

componente de la muestra a la lupanina por lo que se expresan los resultados con la siguiente (Ecuación i):

$$\% \text{ alcaloides} = \frac{V \text{ H}_2\text{SO}_4 \text{ gastado} * N \text{ H}_2\text{SO}_4 * 24.8 * \text{factor de corrección}}{\text{masa de la muestra}} \dots\dots\dots (\text{Ec. i})$$

Donde: 1 ml de H₂SO₄ 0,01 N equivale a 2,48 mg de lupanina.

b. CROMATOGRAFÍA

Para una cuantificación más precisa se usa la cromatografía de gases y de líquido combinado con un detector de espectrómetro de masas (Frick *et al.*, 2017). Estos procesos fisicoquímicos en el que sustancias, también llamadas analitos pasan a través de diversas interacciones entre una fase móvil y estacionaria para separar y permitir la cuantificación de alcaloides de lupino. Esto se da especialmente en Cromatografía de gases (GC, *gas chromatography*), cromatografía líquida de alta presión (HPLC, *high-performance liquid chromatography*) y la cromatografía de capa fina (DC) (Carvajal-Larenas *et al.*, 2016; Wink *et al.*, 1982; Wink, 1993).

b.1. CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA PRESIÓN (HPLC)

Uno de los métodos químicos más usados es el análisis cromatográfico, debido a las grandes ventajas que presenta debido a su especificidad y la posibilidad de utilizarlos para análisis cualitativos y cuantitativos sensibles (Waksmundzka-Hajnos & Sherma, 2011). Las sofisticadas técnicas acopladas como HPLC-espectrometría de masas (LC-MS) y HPLC-resonancia magnética molecular (HPLC-NMR) son utilizados con más frecuencia para el análisis de alcaloides (Petruczynik, 2012; Wink, 1993).

Utiliza un sistema instrumental totalmente automatizado incluye una columna, un contenedor de fase móvil (eluyente), una bomba de fase móvil, un inyector y un detector. El sistema HPLC está controlado por un programa informático (*Software*) que registra los perfiles cromatográficos y todos los datos de los picos individuales las cuales registran: tiempo de retención, altura de pico, ancho de pico, área de superficie de un pico, eficiencia del sistema, factor de simetría de pico, etc. Debido a que la columna que proporciona la

separación está conectada al detector, la HPLC permite la detección e identificación en línea de una amplia gama de compuestos orgánicos e inorgánicos (Waksmundzka-Hajnos & Sherma, 2011; Petruczynik, 2012). Se debe tener una adecuada elección del pH de la fase móvil y con materiales modernos de fase estacionaria para evitarse problemas en los espectros registrados y evitar errores (Oliveira, 2014).

Para los análisis de alcaloides las fases móviles mayormente utilizadas suelen ser tampones con un modificador orgánico, metanol (MeOH) o acetonitrilo (ACN) (Oliveira, 2014; Petruczynik, 2012).

b.2. CROMATOGRAFÍA DE ULTRA ALTA PRESIÓN (UHPLC)

La cromatografía líquida de ultra alta presión (*Ultra-high performance liquid chromatography* por su sigla en inglés UHPLC). Es la innovación más importante en la HPLC moderna, estableciendo un nuevo punto de referencia de rendimiento para separaciones: Más rápidas, mayor resolución, mayor precisión, análisis de alta resolución de muestras complejas, ahorro de disolventes, mayor sensibilidad de masas y compatible con otros métodos de cuantificación (Dong & Guillarme, 2013).

c. CUANTIFICACIÓN CUALITATIVA

Götz (2014) indica que dentro de los métodos de determinación de alcaloides cualitativos usados están: prueba de sabor, color del grano, UV *test*, cocción-agua, toma de agua fría, método de corte y fresado, cocción bolsa, espectroscopia de infrarrojo cercano (NIRS), demolición, espectrofotometría, papel indicador, ácido clorhídrico y pruebas de turbidez (Galek *et al.*, 2017; Hondelmann, 1984).

2.3. CINÉTICA

Estudia la velocidad de un cuerpo al desplazarse y según la Real Academia Española define cinética como “el estudio de la velocidad a la que se producen ciertos procesos”, esta velocidad dada como (“distancia/tiempo”) nos dicen cuánta distancia recorre un cuerpo en un determinado tiempo (Castillo, 2002). Es razonable pensar que, si aumenta la velocidad de las moléculas, la temperatura, también aumente el número de choques por unidad de

tiempo entre ellas generando una velocidad de una reacción (Cedrón, Landa, & Robles, 2011).

Debido a los procesos que son expuestos los alimentos surgen cambios fisicoquímicos, enzimáticos y biológicos el estudio cinético es importante para entender la interrelación entre tiempo y concentración activa (Anbalagan, Kumar, Ilango, Mohankumar, & Priya, 2019; Singh & Heldman, 2014). Es así que es imprescindible representar los procesos de extracción sólido-líquido con modelos matemáticos, para el diseño de equipos de proceso, análisis de procesos y optimización de parámetros de procesos (Anbalagan *et al.*, 2019).

2.3.1. TRANSFERENCIA DE MASA

En cualquier estudio del movimiento molecular en estado sólido, la explicación de la transferencia de masa se basa en dos campos: La difusión de los gases o líquidos en los poros del sólido y la ínter difusión del sólido por medio del movimiento atómico (Roque Masciarelli, 2012). Por consiguiente, la reacción está limitada por transferencia de masa, en lugar de estar limitada por la cinética de la reacción (Singh & Heldman, 2014).

Es decir, que la fuerza impulsora que genera la transferencia de masa es la diferencia de concentración entre dos puntos, donde el componente de una mezcla emigra en una misma fase o de una fase a otra, en dirección de la concentración decreciente, como se observa en la (Ecuación ii) (Cengel, 2007; Geankoplis, 1998; Singh & Heldman, 2014). Cabe destacar que cada vez que existe una falta de equilibrio de un producto en un medio, la naturaleza hace que estos entren en “equilibrio” o “igualdad” (Cengel, 2007).

Flujo de masa = constante de proporcionalidad * gradiente de concentración (Ec. ii)

2.3.2. DIFUSIVIDAD EFECTIVA

La difusión es el movimiento ocasionado por un estímulo físico, en la lixiviación la difusión del soluto a través de la fase sólida es seguida de difusión en el líquido, impulsadas por el movimiento aleatorio de las moléculas (Castillo 2002; Martinez-Navarrete, Andres-Grau, Chiralt-Boix, & Fito-Maupoe, 1999). La determinación de la difusividad en productos sólidos o semisólidos es esencial para cuantificar analizar y controlar las operaciones de transferencia de materia en la Industria Alimentaria (Clemente Polo, 2003). Esta puede ser descrita matemáticamente por la ley de Fick (Singh & Heldman, 2014).

La difusión molecular puede llamarse también como un “proceso con trayectoria aleatoria”(Geankoplis, 1998). Las unidades como se expresa la difusividad son diversas, en el sistema internacional de medida (SI) se presenta como “m²/s” (Ramiro, 2013).

Masciarelli, Stancich, & Fernando (2012), menciona que las difusividades de los gases oscilan entre 5 x 10⁻⁶ y 1 x 10⁻⁵ m² /s, de los líquidos entre 10⁻⁹ y 10⁻¹⁰ m² /s y de los sólidos entre 10⁻¹⁴ y 10⁻¹¹ m² /s.

a. Difusión en estado no estacionario (segunda ley de Fick)

La difusión en solidos ocurre a través de los poros en fase liquida o en fase gas (Martinez-Navarrete *et al.*, 1999). Basándose en un análisis transitorio, y considerando que el coeficiente de difusión es constante y no hay reacciones homogéneas (Cengel, 2007). La diferencia de concentraciones, genera una relación lineal entre la razón de difusión y el gradiente de concentración, propuesta por Fick en 1855, se conoce como ley de Fick de la difusión y puede expresarse de la siguiente forma en la Ecuación (ii) y la Ecuación (1) (Crank, 1957; Cengel, 2007).

Flujo de masa = constante de proporcionalidad*gradiente de concentración...(Ec.ii)

$$Q = -k_{dif}A \frac{dC}{dX} \dots\dots\dots (Ec.1)$$

Donde:

Q: Flujo de masa, razón de flujo.

K_{dif}: Coeficiente de difusión (media de la rapidez).

dC/dX: Gradiente de concentración (cambio en la concentración C por unidad de longitud en la dirección x del flujo).

A: Área normal (m).

Masciarelli *et al.* (2012), menciona que tanto el flujo y la gradiente de concentración varía con el tiempo. Por lo cual la ecuación que se utiliza para describir esta situación es la segunda ley de Fick en la Ecuación (2) (Crank, 1957; Singh & Heldman, 2014).

Que describe en forma diferencial la relación entre la concentración y el tiempo en un punto dado del sistema (Martinez-Navarrete *et al.*, 1999).

$$\frac{\partial c_s}{\partial t} = D_s \frac{\partial^2 c_s}{\partial x^2} \dots\dots\dots (Ec. 2)$$

Donde:

C_s: Concentración del componente que se difunde (g/kg).

D_s: Constante de difusión (m²/s).

X: Distancia sobre que las moléculas difunden (m).

t: Tiempo (s).

En el sistema ideal que consiste solo en el material para difundir (soluto) y disolvente, la constante de difusión (D_s) para partículas esféricas, viene dada por la Ecuación de segundo orden Ecuación (3) (Crank, 1957).

$$\frac{\partial c_t}{\partial t} = K(C_s - C_t)^2 \dots\dots\dots (Ec. 3)$$

Donde:

C_t: Concentración de la extracción en un tiempo de proceso (g/kg).

C_s: Concentración del componente que se difunde (g/kg).

t: Tiempo (s).

k: Constante de velocidad.

2.4. CONGELACIÓN

Una operación unitaria en la que la temperatura del alimento se reduce por debajo de su punto de congelación generalmente a -18°C o menos formando cristales de hielo por el agua contenida en el producto. El congelamiento provoca un aumento en su volumen de 8 % – 10 %. El flujo determina que el cristal vaya creciendo, donde el tamaño y la cantidad de los cristales depende de la velocidad de congelación (Castillo, 2002; Salvadori, 1994).

- Congelación lenta: Se forman cristales de hielo grandes que rompen las células del alimento.
- Congelación rápida: Los cristales de hielo formado son pequeños y no dañan la estructura celular del alimento.

El congelamiento lento suele ser más dañina que el congelamiento rápido debido a que afecta mayormente a la membrana celular que resulta en goteo al descongelar por la ruptura de la membrana con la liberación de enzimas y un aumento de la concentración de reactivo en la fase no congelada, que además establece cristales intercelulares que presenta la capacidad de unir las células e integrar grandes agregados (Badui-Dergal 2006; Powrie, 1984).

Existe una parte de alimentos que aún a temperaturas muy bajas, por ejemplo – 40 °C, una pequeña proporción del contenido inicial de agua permanece sin congelar, esta fracción se denomina "agua ligada" (Salvadori, 1994). La estabilidad y las propiedades de las macromoléculas dentro de las células de los alimentos dependen de la interacción de sus grupos reactivos con la fase acuosa que los rodea, la membrana de la célula es quien retiene el agua y por lo tanto la que mantiene la frescura, esta membrana es muy dependiente de la temperatura, puesto que conlleva a una fácil disociación y a la liberación del agua durante el descongelamiento (Badui-Dergal, 2006).

Para los alimentos congelados, donde el oxígeno atmosférico sólo puede ser transportado al producto a través de la fase de agua no congelada a medida que la temperatura desciende por debajo del punto de congelación, disminuye la accesibilidad del oxígeno al interior restringiendo la difusión de oxígeno y la autooxidación de lípidos (Powrie, 1984).

2.5. TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN ECOLÓGICAS DE ALIMENTOS

Para mejorar las tecnologías convencionales existen nuevas formas de extracción de componentes a partir de nuevas tecnologías como las técnicas de procesamiento de alimentos ecológicos (*Green food processing*), generalmente implican menos tiempo, agua y energía, como los procesos asistidos por ultrasonido (US), fluido supercrítico (SCF), microondas (MW), caída de presión controlada (DIC) y pulsos eléctricos (PEF), Dióxido de carbono (CO₂), asegurando un producto seguro y de alta calidad ver Figura 9 (Chemat *et al.*, 2017; Périno-Issartier, Zill-e-Huma, Abert-Vian, & Chemat, 2011; R. Rosa, Ferrari, & Veronesi, 2018).

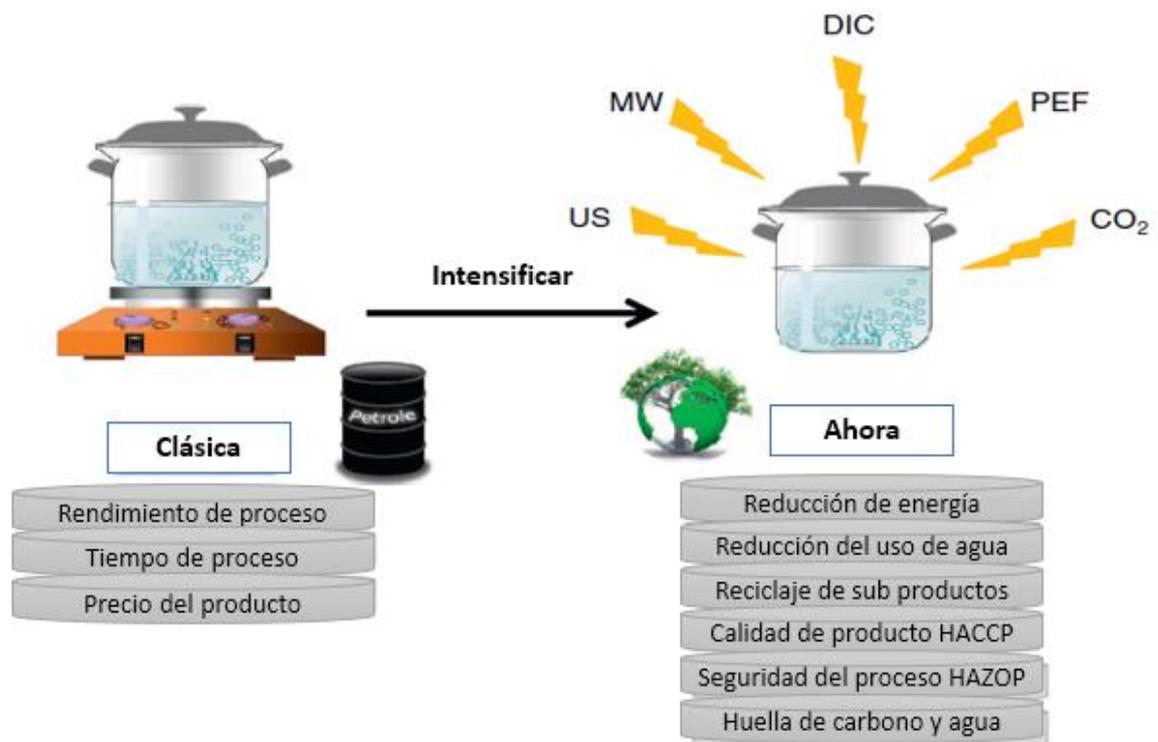


Figura 9: Evolución de (*Green Food Processing*) en extracción de componentes

FUENTE: (Chemat *et al.*, 2017).

2.5.1. MICROONDAS

El método de calentamiento por microondas ofrece varias ventajas, en cuanto al uso en alimentos como una mayor velocidad en el calentamiento frente a los alimentos congelados, forma, densidad del material y la composición del alimento (Singh & Heldman, 2014). Difiere del calentamiento tradicional debido a que el calentamiento comienza desde el interior del material vegetal, permitiendo penetrar uniformemente en todo el volumen de material instantáneamente (Arrutia, Adam, Calvo-carrascal, Mao, & Binner, 2020; Vinatoru, Mason, & Calinescu, 2017).

a. Principio de funcionamiento

Las ondas electromagnéticas son capaces de viajar a través del vacío, a diferencia de las ondas mecánicas que necesitan un medio material para poder hacerlo (Castillo, Aranibar, Polar, Fuentes, & Bolaños, 2014; Vinatoru *et al.*, 2017).

Los hornos de microondas consisten principalmente de un generador de microondas (magnetron), tubos de aluminio llamados guías de onda, y una cavidad metálica (cavidad de resonancia), donde la potencia de los equipos domésticos se extiende de 0.7 a 2 kW hasta una frecuencia de 2,45 MHz, que corresponde a una longitud de onda de 12,2 cm y a una energía de $1,02 \times 10^{-5}$ eV (Moreno, Hernández, & Ballesteros, 2017; Plazzotta, Ibarz, & Manzocco, 2019; Ramiro, 2013). La potencia de salida suele estar en el rango de 500–1500 W (Pozar, 2012).

La interacción entre los componentes del campo eléctrico y magnético de las microondas sobre los materiales provocan pérdidas dieléctricas y magnéticas conduciendo a la calefacción (Vinatoru *et al.*, 2017). Akhtar, Javad, Yousaf, Iqbal, & Jabeen (2012), menciona que existen dos tipos de equipos de microondas de recipiente cerrado y microondas de recipiente abierto, en la primera se puede controlar la temperatura y presión.

Este sistema como se observa en la Figura10, está compuesto por:

- Generador de microondas: Magnetron o tubo de potencia, donde se genera energía de microondas.

- Guía de onda que se usa para propagar las microondas desde la fuente a la cavidad de microondas.
- El aplicador: Donde se coloca la muestra.
- Circulador: Esto permite que el microondas se mueva solo hacia adelante (Akhtar *et al.*, 2012).

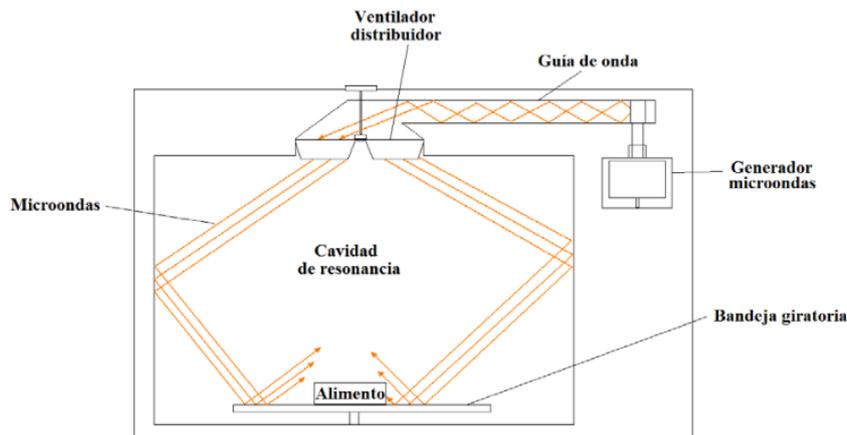


Figura 10: Diagrama de un horno de microondas.

FUENTE: (Akhtar *et al.*, 2012).

b. Aplicaciones (extracción)

La vibración del agua y otras moléculas polares causadas dentro de la biomasa húmeda, genera aumentos de temperatura en los líquidos intracelulares que posteriormente causa la evaporación y ejercer presión sobre las paredes celulares, lo que conduce a la alteración celular (Vijay, Id, & Butler 2018; Chemat *et al.* 2010).

Extracción asistida por microondas (EAM) es más comúnmente utilizado para la extracción de componentes bioactivos y alcaloides (Shankar *et al.*, 2010). Con el principio de funcionamiento del microondas, las ondas de microondas penetrará las muestras y se convertirá en calor, y como resultado extraer compuestos de las muestras (Xiong *et al.*, 2016). En consecuencia reducir el tiempo de extracción (Shankar *et al.*, 2010).

La extracción por microondas depende del tipo de solvente, la relación de solvente a material vegetal, la potencia, las temperaturas, el tiempo de extracción, así como la naturaleza de la matriz de la planta y la molécula objetivo para mejorar su efectividad (Akhtar *et al.*, 2012).

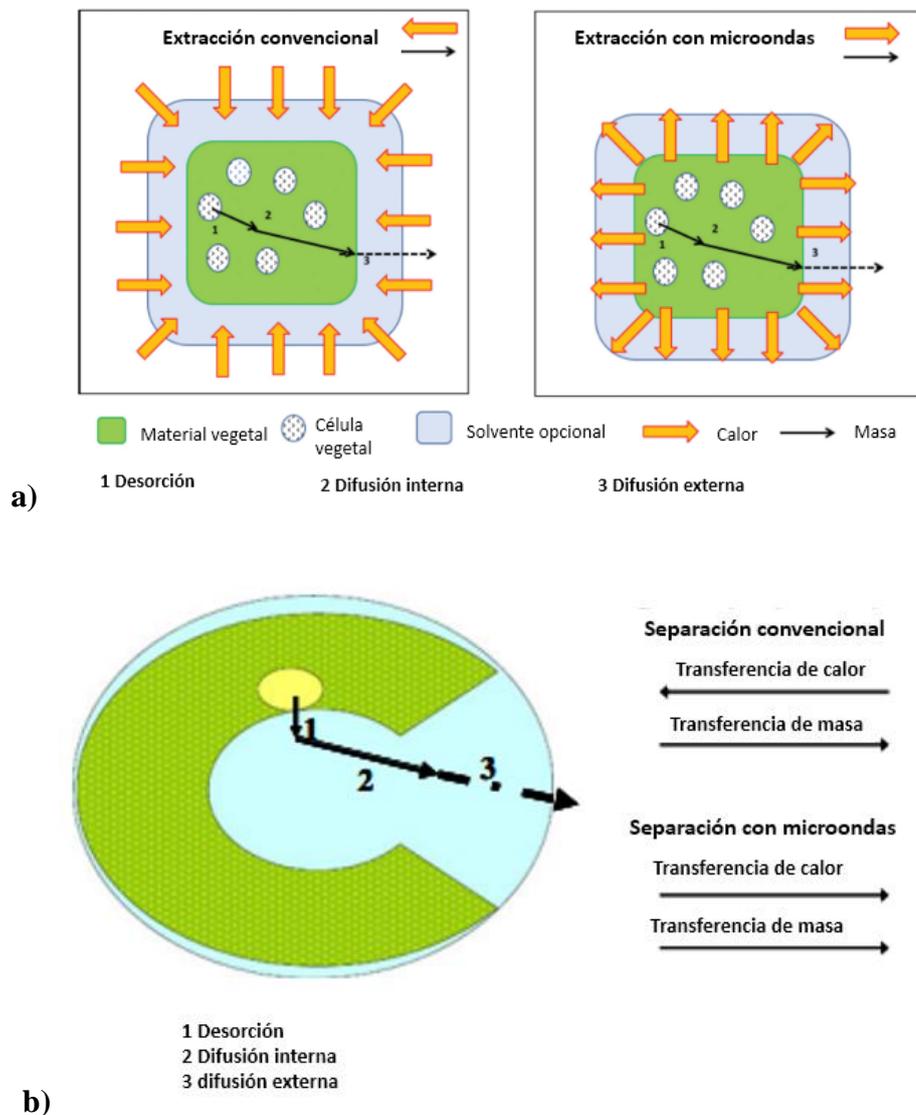


Figura 11: Mecanismo de transferencia de calor y masa. a) Extracción con microondas. b) Transferencia entre métodos.

FUENTE: (Périno-Issartier *et al.*, 2011; R. Rosa *et al.*, 2018).

Como se muestra en la Figura 11, basándose en que la sinergia que se genera de los solventes con el microondas, ambos mecanismos de transporte salen en el mismo sentido opuesto a las técnicas de extracción convencionales, debido a los cambios en la estructura celular causada por ondas electromagnéticas (Angiolillo, Nobile, &

Conte, 2015; Périno-Issartier *et al.*, 2011; R. Rosa *et al.*, 2018). El solvente penetra en la matriz sólida por difusión y el soluto se disuelve hasta alcanzar una concentración limitada por las características del sólido (Angiolillo *et al.*, 2015).

En el caso de extracción, la ventaja del calentamiento por microondas es la interrupción del hidrógeno débil y límites promovidos por la rotación dipolar de las moléculas (Kaufmann & Christen, 2002). La destrucción del enlace de hidrógeno también aumenta la eficiencia de penetración de los solventes en la matriz de la planta (Akhtar *et al.*, 2012).

Recientemente, extracciones innovadoras como la extracción asistida por microondas (EAM) y la extracción asistida por ultrasonidos (EAU) han demostrado ser una alternativa viable a los procedimientos convencionales para la extracción de alcaloides bioactivos de *Stephania rotunda Lour* y *Stephania Dieica sinica*, ya que son más eficientes, más rápidos, ecológicamente amigable, y usa solventes menos tóxicos reduciendo tiempos de extracción de 5, 10 y 15 minutos e incluso tiempos menores de hasta 30 segundos para la producción de metabolitos dentro de la célula (Akhtar *et al.*, 2012; Dary *et al.*, 2017).

Para Xiong *et al.* (2016), la extracción de alcaloides con MAE en comparación con los métodos tradicionales, muestra más ventajas significativas y se ha aplicado para extraer alcaloides de diferentes plantas. Los microondas comerciales usan 2450 MHz de energía para este propósito, que es casi equivalente a 600 - 700 W (Akhtar *et al.*, 2012). Xiong *et al.* (2016), trabajó con una potencia de 200 W con 2 ml de solución acuosa de metanol al 60 % (v/v) por 5 minutos, para la extracción de 10.86 mg/g de alcaloides bioactivos de *Plumule lotus*.

2.5.2. ULTRASONIDO

Una de las tecnologías emergentes que se han desarrollado para reducir procesamientos, maximizar la calidad y garantizar la seguridad de los alimentos (Awad, Moharram, Shaltout, Asker, & Youssef, 2012). Los ultrasonidos son ondas acústicas, con una frecuencia mayor a los 18 kHz o 20 kHz representa un valor inaudible por el oído humano (García, 2007; Ineda Muñoz *et al.*, 2017).

Existen dos niveles de energía: Baja energía (baja potencia, baja intensidad) frecuencia superior a los 100kHz e intensidad por debajo de 1 W.cm^{-2} ; alta energía (alta potencia, alta intensidad) intensidades superior a 1 W.cm^{-2} a frecuencias entre 20 y 500 kHz considerada como ultrasonidos de potencia (Awad *et al.*, 2012; Chemat *et al.*, 2017).

Dentro de los ultrasonidos de potencia, el transductor es el encargado de transformar la energía proporcionada por la fuente (eléctrica, magnética o mecánica) en energía acústica con las características de intensidad y frecuencia deseadas en vibraciones mecánicas (García, 2007). Generan efectos mecánicos y bioquímicos, que pueden ser utilizadas para modificar las propiedades fisicoquímicas y mejorar la calidad de varios procesos alimentarios durante el procesamiento, usando baños de sonicación o sondas de inmersión ultrasónicas (Awad *et al.*, 2012; Dzah, Duan, Zhang, Wen, & Zhang, 2020).

a. Principio de funcionamiento

Cuando la energía ultrasónica atraviesa el sólido causa rápidas series de contracciones y expansiones alternativas, generando el crecimiento de la burbuja que puede terminar en la implosión violenta, la cual conlleva una importante liberación de energía al medio y favorece la eliminación de las moléculas de agua de la fase líquida que se encuentran fuertemente retenidas en la matriz sólida fragmentando e interrumpiendo la superficie de la matriz (Chemat *et al.*, 2017; García, 2007).

Para establecer los experimentos de extracción existen varios tipos de ultrasónidos en uso para EAU, cada uno con diferentes características: Baños de ultrasonido (ver Figura 12a), sistema de sonda ultrasónica (ver Figura 12b) y las unidades experimentales diseñadas estas puedan ser de sonicación directa o indirectamente

(Vinatoru *et al.*, 2017). Donde la potencia máxima del sistema dependerá del número de transductores, y la frecuencia del tipo de transductor (García, 2007).

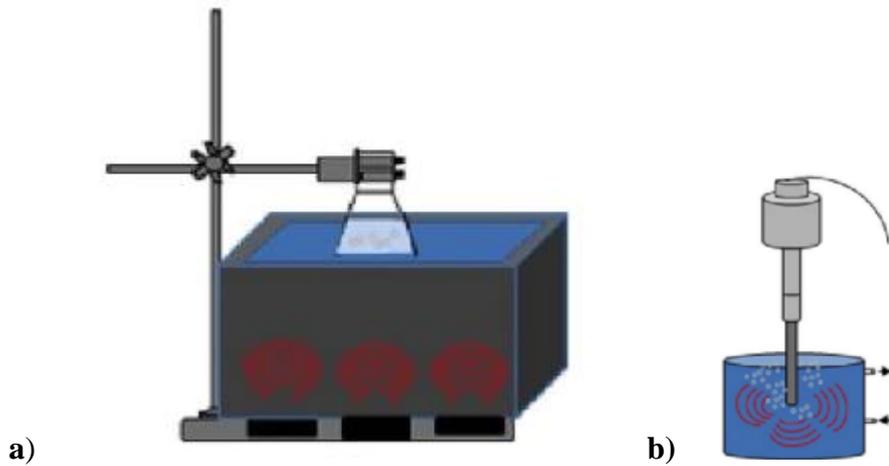


Figura 12: Sistema de ultrasonidos. a) Baño ultrasónico y b) Ultrasonido de inyección.

FUENTE : (Chemat *et al.*, 2017).

En todas las tecnologías de extracción, el tiempo requerido para alcanzar el equilibrio puede generarse de varias formas (Vinatoru *et al.*, 2017): Calentamiento directo para mejorar la movilidad de las moléculas y uso de descargas eléctricas que también pueden perturbar el estancamiento de capa (sin embargo, esta es una técnica poco utilizada).

Las burbujas colapsadas generan espacios grandes, donde el reemplazo continuo de cualquier capa estancada es extremadamente rápido (Vinatoru *et al.*, 2017). Las burbujas colapsadas asimétricas actúan como pequeños golpes de martillo hacia las partículas, generando difusión de compuestos extraíbles como se ilustra en la Figura 13 (Chemat *et al.*, 2017).

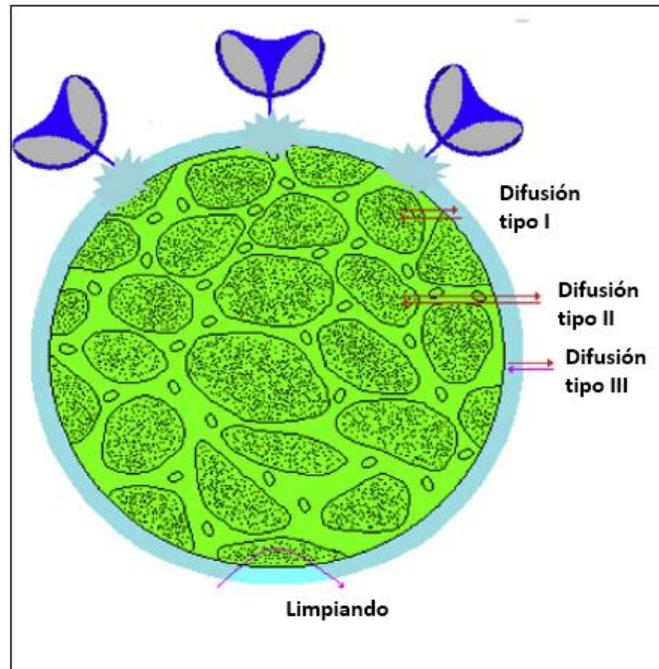


Figura 13: Posible difusión de componente en la extracción con ultrasonidos.

FUENTE: (Vinatoru et al., 2017).

La elección adecuada de ultrasonidos para el proceso de extracción se debe tener en consideración la fuente y el medio de extracción considerando la marca del equipo, variaciones en el control de parámetros como temperatura, frecuencia, tiempo y potencia (Dzah *et al.*, 2020).

b. Aplicaciones

El efecto de cavitación favorece el transporte de masa debido al rompimiento de la pared celular (Chemat *et al.*, 2017). Sin embargo, el uso de ultrasonidos como tecnología asistente se ha reportado como más ventajosa que el emplear procesos como extracción con fluidos supercríticos, microondas y extracción acelerada con solventes debido a que el uso de solventes utilizado es menor (Chemat *et al.* 2010; Robles-Ozuna & Ochoa-Martinez, 2012).

Para la extracción de componentes Plazzotta *et al.* (2019), indica que la frecuencia oscila entre 20 y 24 kHz. La extracción de alcaloides de *Estefania Cambodica* realizaron a tiempos de 5, 10 y 15 min con una frecuencia de 25 kHz y con un máximo

potencia de entrada de 150 W, mostrando resultados favorables respecto a las técnicas convencionales (Dary *et al.*, 2017).

Wang *et al.* (2018) y Lu *et al.* (2017), mencionan que una extracción asistida por ultrasonido-microondas (UMAE) como se ve en la Figura 14a y 14b, presenta mayores rendimiento en la extracción de componentes bioactivos, debido al incremento rápido de la temperatura del microondas y la cavitación generada por los ultrasonidos.

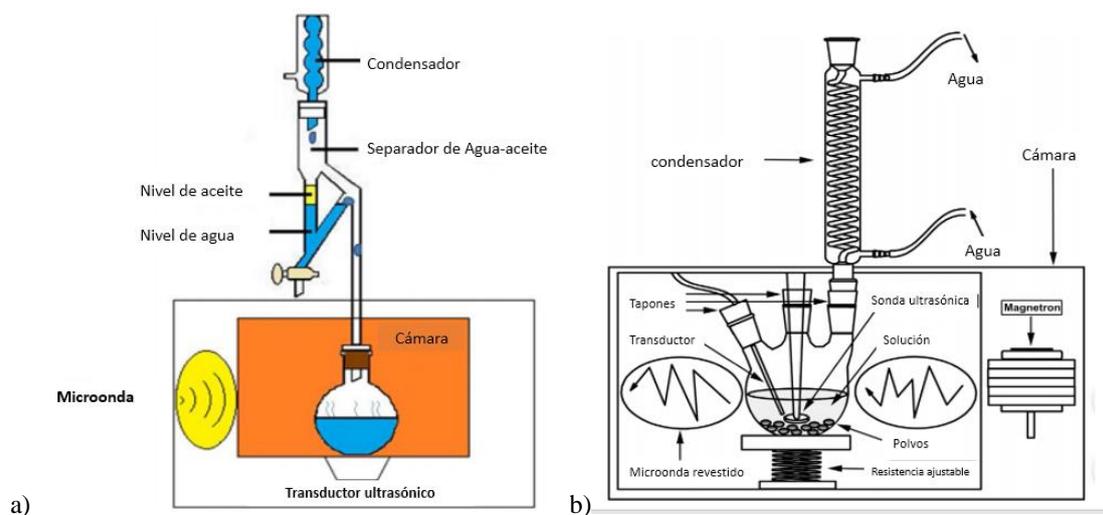


Figura 14: Diagrama esquemático del dispositivo de UMAE a) Extracción de aceite esencial de pimientos blancos y negros, b) Extracción de oligosacáridos de semillas de loto (*Nelumbo nucifera Gaertn.*)

FUENTE: (Lu *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 2018).

En la cinética de hidratación de grano andinos, la aplicación de ultrasonidos aceleró casi un 40% respecto a los procesos convencionales (Alberto C. Miano *et al.*, 2019). Es así que además del shock provocado por las ondas facilita la hinchazón y la hidratación (Marić *et al.*, 2018).

2.6. ANÁLISIS SENSORIAL

La evaluación sensorial surge como disciplina para medir la calidad de los alimentos, conocer la opinión y mejorar la aceptación de los productos por parte del consumidor. Además, esta evaluación no solamente se tiene en cuenta para el mejoramiento y

optimización de los productos alimenticios existentes, sino también para realizar investigaciones en la elaboración e innovación de nuevos productos, en el aseguramiento de la calidad, su promoción y venta (*marketing*) (Hernandez Alarcon, 2005).

El análisis sensorial o evaluación sensorial es el análisis de los alimentos u otros materiales a través de los sentidos. Según Liria (2007), existen tres tipos de pruebas sensoriales:

- Discriminatoria: Determina diferencias entre dos productos, tipo de prueba analítica donde los panelistas son reclutados por agudeza sensorial y entrenados.
- Descriptiva: Determina las características que difieren entre los productos, tipo de prueba analítica, panelistas reclutados por agudeza sensorial y entrenados.
- Afectiva: Determina la aceptabilidad de consumo del producto, tipo de prueba hedónica, panelistas reclutados por uso del producto y no entrenados.

2.6.1. PRUEBA DE PERFIL DE TEXTURA

El Perfil de Textura es uno de los mejores métodos descriptivos que contempla todas las características que describen al producto, en relación a la textura desde la primera mordida hasta la deglución (Gavino, Isuiza, & Saavedra, 2018).

Estas cualidades se clasifican en: Mecánicas, geométricas y de composición (Espinosa 2007; Gavino *et al.* 2018).

- Propiedades mecánicas: Dentro de estos atributos se presenta la dureza (fuerza necesaria para una deformación dada), cohesividad (la resistencia del material antes de romperse), viscosidad (el flujo de la muestra), elasticidad (capacidad del material deformado de regresar a su estado original), adhesividad (fuerza necesaria para vencer las fuerzas de atrición entre materiales)
- Propiedades geométricas: Lisa y rugosa.
- Propiedades de composición: Grasa y humedad.

Para el análisis de textura de un alimento, esta prueba requiere de 8 – 10 panelistas entrenados (Hernandez, 2005).

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN

Para la presente investigación se presentaron las siguientes hipótesis:

3.1.1. HIPÓTESIS GENERAL

- La aplicación de microondas y ultrasonido durante la extracción del alcaloide del Tarwi previamente hidratado y congelado ayuda a intensificar la cinética de desamargado del Tarwi.

3.1.2. HIPÓTESIS ESPECÍFICAS

- Los adecuados parámetros emitidos por el ultrasonido son influyentes para mejorar la cinética de extracción del alcaloide del Tarwi congelado.
- Los adecuados parámetros emitidos por el microondas son influyentes para mejorar la cinética de extracción del alcaloide del Tarwi congelado.
- La difusividad efectiva del alcaloide es mayor en los tratamientos usados con microondas y ultrasonido respecto al convencional.
- La aplicación de microondas y ultrasonido respecto a la metodología convencional ayuda a disminuir el tiempo de extracción del alcaloide del Tarwi como en cantidad siendo verificada bajo un análisis sensorial e instrumental.

3.2. MATERIALES

3.2.1. LUGAR DE LA EJECUCIÓN

El trabajo se realizó en los siguientes laboratorios de investigación:

- Laboratorio de física de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional José María Arguedas – Andahuaylas – Perú.
- Laboratorio de Fisicoquímica y cromatografía de la Escuela Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional de Juliaca-Sede Ayabacas – Juliaca – Perú.

3.2.2. MATERIA PRIMA

Las muestras de Tarwi fueron obtenidas del banco de ecotipos de Tarwi en Camacani-Puno de la Universidad Nacional del Altiplano – Puno, Facultad de Ciencias Agrarias de la Escuela Profesional de Ingeniería Agronómica, para la investigación se usaron los ecotipos de Yunguyo y Seccelambra de la cosecha 2019.

3.2.3. MATERIALES DE LABORATORIO

- Termómetro digital (-50-300 °C) (Marca Boeco Germany)
- Balanza (d=0.01g) (Marca Radwag WTC 2000)
- Vasos de precipitados pirex (50 ml, 500 ml y 1000 ml) (Marca Boeco Germany)
- Probeta graduada (100 ml) (Marca Isolab Germany)
- Pipetas graduadas (1ml y 10 ml) (Marca Pirex)
- Micropipeta (100-1000 µl) (Marca Bio-Rad)
- Tamiz (Nº. 20 y 16) (Marca wstyler)
- Mortero de porcelana con pistilo (Marca Haldenwanger)
- Soporte universal (Marca Kintel)
- Pera de decantación (125 ml) (Marca LB Germany)
- Tubos de ensayo (15 ml) (Marca pirex)
- Vortex mixer (Marca Kyntel)
- Digital Caliper ó vernier (Marca STAINLESS HARDENED 0-150mm)

3.2.4. REACTIVOS E INSUMOS

- Agua destilada
- Agua bidestilada (agua de inyección) (marca Bibraun)
- Ácido Clorhídrico (HCl) 0.5 N
- Hidróxido de amonio (NH₄OH) al 25 %

- Diclorometano (CH_2Cl_2) ($M=84.93$ g/mol)
- Metanol (CH_3OH) ($PM=32.04$ g/mol)
- Agua grado HPLC (H_2O) ($PM=18$ g/mol)
- Acetonitrilo grado HPLC (CH_3CN) ($PM=41.05$ g/mol)
- Ácido fosfórico grado HPLC (H_3PO_4) ($PM=97.99$ g/mol)
- Metanol grado HPLC CH_3OH ($M=32.04$ g/mol)
- Estándar de lupanina ($\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}$) (98 % de pureza) (Método de prueba de pureza = Análisis de RMN)

* Los reactivos e insumos se adquirieron mediante (“Química Service S.rl.” y “JF Importaciones”), para el estándar se adquirió de “ALB Technology”.

3.2.5. EQUIPOS

- Ultrasonic Cleaner (Branson Model B-1200-R1, 40 KHz)
- Microondas (Samsung mod.342-2017 ap3, Tokyo)
- Secador (Estufa) (Modelo DHG-9023A, Marca ICOSA)
- Congelador (Marca Alpicool)
- Centrifugador (5000 rpm) (Bio Lion CC-L5)
- Rotavapor (Boeco Germany RVO 400SD)
- pH-metro (Hanna HI 4221)
- Cromatógrafo- líquido con detector de espectrometría acoplado de masa-masa (Marca Thermo Scientific) (Modelo Ulti Mate 3000).

3.3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

3.3.1. EXTRACCIÓN DE ALCALOIDES QUINOLÍZIDINICOS DEL TARWI.

Para la extracción de alcaloides Quinolizidínicos del *Lupinus mutabilis*, se realizaron con diferentes métodos de extracción no convencionales entre ellas la extracción asistida con microondas y ultrasonido.

a. Diseño experimental

El diseño experimental para el proceso de desamargado del Tarwi se presenta en la Figura 15.

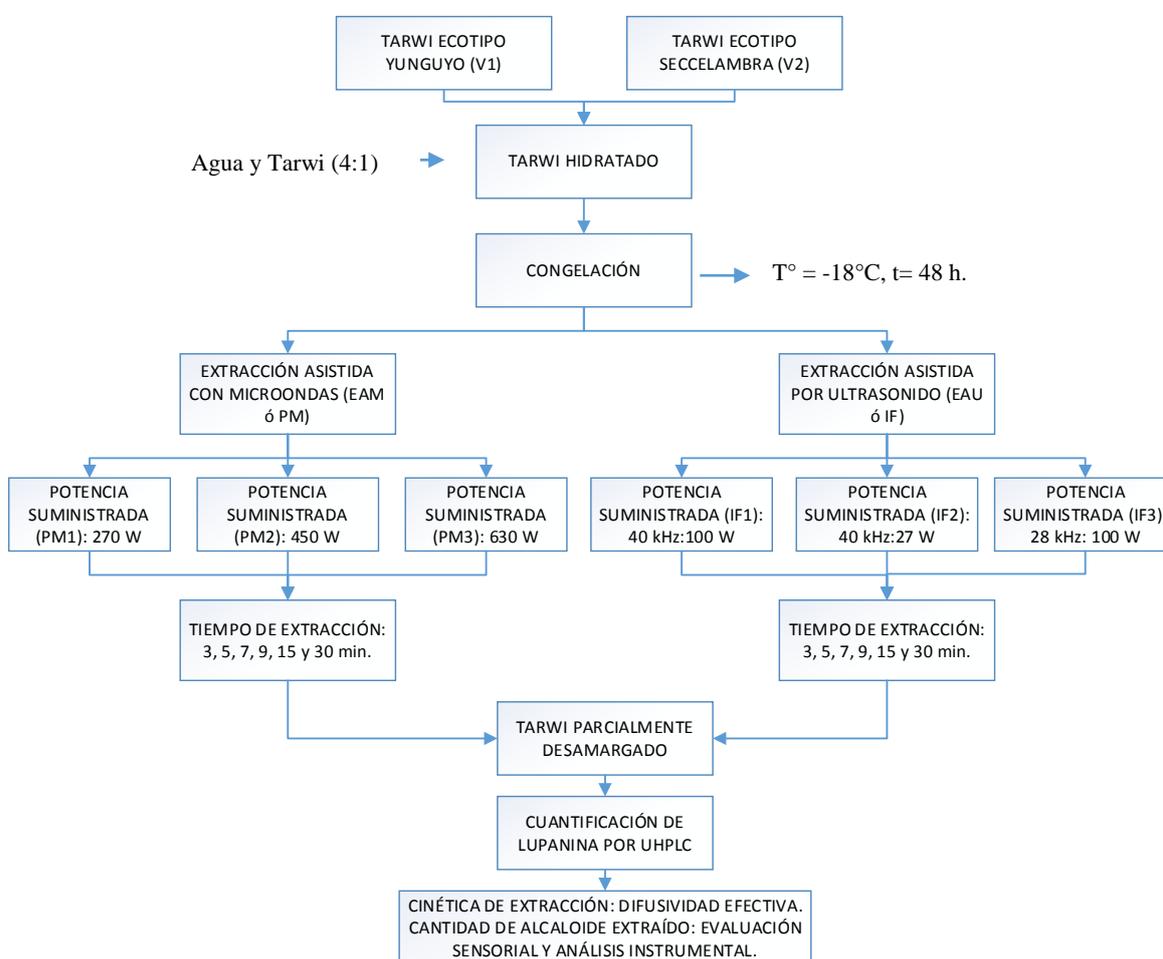


Figura 15: Diseño experimental del desamargado del Tarwi.

UHPLC: Cromatografía líquida de ultra alta presión.

b. Preparación de la muestra

Los granos de Tarwi, fueron obtenidos del banco de ecotipos en Camacani de la Escuela Profesional de Ingeniería Agronómica de la Universidad Nacional del Altiplano-Puno.

Se seleccionaron granos con estados de maduración completa y homogénea, para luego ser hidratados durante 24 horas a temperatura ambiente en la Figura 41a y 41b del Anexo 1, se muestra la humedad adquirida en la hidratación del Tarwi.

b.1. Congelación

Las muestras hidratadas fueron sometidas a congelación a (-18 °C a -20°C), en una congeladora capaz de llegar a estas temperaturas, en recipientes con una cantidad de agua que cubra todos los granos durante 2 días. Como se muestra en la Figura 16a, del ecotipo Yunguyo y en la Figura 16b, el ecotipo Seccelambra.

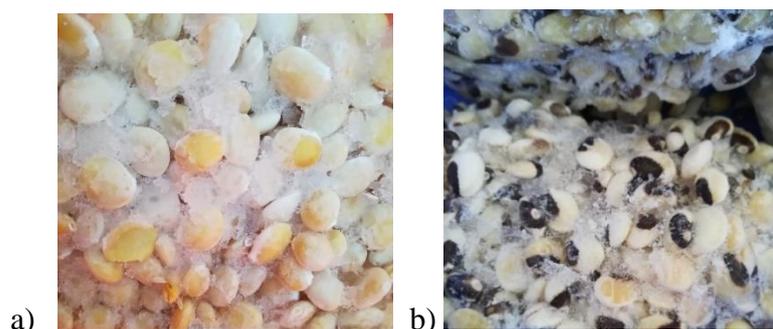


Figura 16: Tarwi congelado. a) Ecotipo “Yunguyo”, b) Ecotipo “Seccelambra”.

c. Extracción asistida por microondas

Las muestras congeladas de los dos ecotipos, fueron introducidas al microondas con una relación de Tarwi y agua de (1:5) que representa 20 g de Tarwi aproximadamente frente a 100 g de agua como se muestra en la Figura 42 del Anexo 1, en tres niveles de potencia 30 %, 50 % y 70 % que representa 270 W, 450 W y 630 W respectivamente con tiempos variantes que van desde los 3, 5, 7, 9, 15 y 30 minutos como se muestra en la Tabla 4, siguiendo el mismo tiempo e intensidad de potencia para ambos ecotipos como se observa también en la Figura 15 del diseño

experimental usado. Cada uno con tres repeticiones, de las cuales dos usadas para la cuantificación de alcaloides y la otra para el análisis sensorial.

Tabla 4: Extracción de alcaloides asistida por microondas.

| Corrida | Tratamiento EAM | Código | Peso de Tarwi (g) | Nivel de potencia (%) | Potencia en Watts (W) | DP (w/g) ^a | Tiempo (min) |
|---------|--------------------|----------------------|-------------------------|-----------------------------|-----------------------------|--------------------------|-----------------|
| 0 | 0 | V1PM0 | 20.150 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1 | 1 | V1PM13 | 20.140 | 30 | 270 | 13.406 | 3 |
| 2 | 1 | V1PM15 | 20.130 | 30 | 270 | 13.413 | 5 |
| 3 | 1 | V1PM17 | 20.260 | 30 | 270 | 13.327 | 7 |
| 4 | 1 | V1PM19 | 20.370 | 30 | 270 | 13.255 | 9 |
| 5 | 1 | V2PM115 | 20.210 | 30 | 270 | 13.360 | 15 |
| 6 | 1 | V1PM130 | 20.320 | 30 | 270 | 13.287 | 30 |
| 7 | 2 | V1PM23 | 20.240 | 50 | 450 | 22.233 | 3 |
| 8 | 2 | V1PM25 | 20.190 | 50 | 450 | 22.288 | 5 |
| 9 | 2 | V1PM27 | 20.200 | 50 | 450 | 22.277 | 7 |
| 10 | 2 | V1PM29 | 20.160 | 50 | 450 | 22.321 | 9 |
| 11 | 2 | V1PM215 | 20.200 | 50 | 450 | 22.277 | 15 |
| 12 | 2 | V1PM230 ^b | 20.310 | 50 | 450 | 22.157 | 30 |
| 13 | 3 | V1PM33 | 20.180 | 70 | 630 | 31.219 | 3 |
| 14 | 3 | V1PM35 | 20.190 | 70 | 630 | 31.204 | 5 |
| 15 | 3 | V1PM37 | 20.270 | 70 | 630 | 31.080 | 7 |
| 16 | 3 | V1PM39 | 20.190 | 70 | 630 | 31.204 | 9 |
| 17 | 3 | V1PM315 | 20.190 | 70 | 630 | 31.204 | 15 |
| 18 | 3 | V1PM330 ^b | 20.150 | 70 | 630 | 31.266 | 30 |

^a: DP=Densidad de la potencia W/g.

^b: Relación de Tarwi y agua (1:10).

Donde, la codificación de la corrida 1, tratamiento uno representa al ecotipo Yunguyo (V1), nivel de potencia 270 W (PM1), tiempo de 3 min (3) y así sucesivamente para todos los tratamientos de acuerdo a los diferentes niveles de

potencia y tiempos como se muestra en la Tabla 4. La densidad de potencia de los tratamientos realizados fue transformado a watts/gramo de muestra (W/g).

d. Extracción asistida por ultrasonido

Las muestras fueron sometidas al ultrasonido en la misma relación de 1 en 5 como se muestra en la Figura 43 y 44 del Anexo 1. Cada uno con tres repeticiones de las cuales dos usadas para la cuantificación de alcaloides y la otra para el análisis sensorial. Como se observa en la Tabla 5 y Figura 15, este proceso fue igual para ambos ecotipos en cuanto al tiempo y las intensidades de frecuencias.

Tabla 5: Extracción de alcaloides asistida por ultrasonido.

| Corrida | Trata- miento EAU | Código | Peso de Tarwi (g) | Frecuenc ia (kHz) | Potencia (W) | DP(w/g) * | Tiempo (min) |
|---------|-------------------------|---------|-------------------------|----------------------|-----------------|--------------|-----------------|
| 0 | 0 | V1IF0 | 20.100 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1 | 1 | V1IF13 | 20.030 | 40 | 100 | 199.700 | 3 |
| 2 | 1 | V1IF15 | 20.140 | 40 | 100 | 198.610 | 5 |
| 3 | 1 | V1IF17 | 20.290 | 40 | 100 | 197.141 | 7 |
| 4 | 1 | V1IF19 | 20.190 | 40 | 100 | 198.118 | 9 |
| 5 | 1 | V1IF115 | 20.120 | 40 | 100 | 198.807 | 15 |
| 6 | 1 | V1IF130 | 20.170 | 40 | 100 | 198.314 | 30 |
| 7 | 2 | V1IF23 | 20.60 | 40 | 27 | 52.427 | 3 |
| 8 | 2 | V1IF25 | 20.130 | 40 | 27 | 53.651 | 5 |
| 9 | 2 | V1IF27 | 20.200 | 40 | 27 | 53.465 | 7 |
| 10 | 2 | V1IF29 | 20.190 | 40 | 27 | 53.492 | 9 |
| 11 | 2 | V1IF215 | 20.600 | 40 | 27 | 52.427 | 15 |
| 12 | 2 | V1IF230 | 20.170 | 40 | 27 | 53.545 | 30 |
| 13 | 3 | V1IF33 | 20.160 | 28 | 100 | 138.889 | 3 |
| 14 | 3 | V1IF35 | 20.130 | 28 | 100 | 139.096 | 5 |
| 15 | 3 | V1IF37 | 20.140 | 28 | 100 | 139.027 | 7 |
| 16 | 3 | V1IF39 | 20.120 | 28 | 100 | 139.165 | 9 |

| | | | | | | | |
|------------------|---|---------|--------|----|-----|---------|----|
| - «continuación» | | V1IF315 | 20.190 | 28 | 100 | 138.683 | 15 |
| 18 | 3 | V1IF330 | 20.250 | 28 | 100 | 138.272 | 30 |

*DP=Densidad de la potencia W/g.

Donde, la codificación de la corrida 1 tratamiento uno representa: (V1) - Ecotipo Yunguyo; (IF1) - Intensidad de frecuencia de 40 kHz a 100 W; (3) - Tiempo de extracción 3 minutos y así sucesivamente para todos los tratamientos de acuerdo a los diferentes niveles de potencia y tiempo como se muestra en la Tabla 5.

e. Desamargado convencional del tarwi

Para evaluar las diferencias, entre los métodos de extracción por microondas y ultrasonido respecto a la metodología convencional, se consideró la referencia de (Cortés-Avenidaño *et al.*, 2020; Gutiérrez *et al.*, 2016; S. E. Jacobsen & Mujica, 2006), para el desamargado convencional del Tarwi que siguen el proceso como se describen a continuación: Se pesa la materia prima, la cual luego es remojada con una proporción de materia prima y agua de 1:6 (p/v). El tiempo de remojo señalan a 12 horas a temperatura ambiente, posteriormente, se elimina el agua del remojo, esta es escurrida y llevada a 90 °C durante un periodo de 30 minutos a 1 hora, con una proporción de materia prima: agua 1:5 (p/v). Luego los granos son lavados durante 5 días con cambios de agua cada 6 horas.

f. Cuantificación de alcaloides quinolizidínicos

- *Extracción de alcaloides – preparación de la muestra*

Para la cuantificación de alcaloides, se realizó una extracción sólido-líquida del alcaloide donde se pesaron 1g de Tarwi con tamaño de partícula < 0,5 mm (Reinhard *et al.*, 2006). Según la metodología planteada por Wink (1993), se homogenizó en 10 ml de HCl a 0.5 N, después de 30min a temperatura ambiente, se centrifugó durante 10 min a 3500 rpm. El sobrenadante se alcalinizó con una solución de NH₄OH al 25 % o 4 M, para alcanzar un pH de 10-11 La solución alcalina se eluyó con diclorometano (20 ml CH₂Cl₂), en un rotavapor a 45 °C como lo describieron (Cortés-Avenidaño *et al.* 2020); Ganzera *et al.* 2010; Resta *et al.* 2008)

con ligeras modificaciones. El resto es disuelto en 4 ml de metanol para luego pasar a los viales (Waksmundzka-Hajnos & Sherma, 2011).

En las mismas circunstancias Kontou, Tsipi, Oreopoulou, & Tzia (2001) y Puig (2016), evaluaron la extracción tradicional con solventes y embudos de separación, la cual es comparada con la SPE en cartuchos "Extrelut", y resultaron tener la misma función pero este último de más precisión en la separación líquido-líquido.

- **Calibración del estándar**

Para la calibración se revalidó la metodología planteada por Dubois et al. (2019) y Ganzera *et al.*, (2010), preparando una solución del patrón lupanina grado HPLC en metanol (1.5 mg/ml), obteniéndose concentraciones de 200, 400, 600, 800 y 1000 ppm de lupanina (Hindler & Huisa, 2017). La separación cromatográfica se logró con una columna Luna ® Omega 1.6 µm polar C18 10 *Lc Column* 100 x 2.1 mm, y pre columna ULTRA *Cartridges UHPLC Fully Porous polar C18 2.1 to 4.6 mm Ib columns*. Con una fase móvil de: Ácido fosfórico (0.01N H₃PO₄), metanol (CH₃OH), acetonitrilo (CH₃CN) y agua (H₂O). La gradiente programada se detallada en la Tabla 6.

Tabla 6: Programación de gradientes para el UHPLC.

| Tiempo (min) | %A | %B | %C | %D |
|--------------|----|----|----|----|
| 0 | 10 | 40 | 40 | 10 |
| 2 | 10 | 50 | 30 | 10 |
| 4 | 10 | 60 | 20 | 10 |

A: Ácido fosfórico.

B: Metanol.

C: Acetonitrilo.

D: Agua.

Operado a 30 °C, con un flujo de 0.150 ml/min a un volumen de inyección 3 µl, con una longitud de onda entre UV 205 nm y 220 nm (Waksmundzka-Hajnos & Sherma, 2011; Oliveira, 2014). Obteniendo un *R-Square* de 0.989 para la calibración con el estándar y los parámetros antes mencionados.

- ***Cuantificación de alcaloides quinozilínicos en HPLC***

Para la cuantificación en el *Ultra high performance liquid chromatography* (UHPLC) la solución ya concentrada se disolvió en metanol en relación de 1 en 5, y se filtró a través de un filtro de membrana de 0,2 µm hacia los viales, cada análisis se realizó por duplicado para iniciar con la cuantificación en el UHPLC.

g. Modelo de cinética y difusividad para la extracción de alcaloides con EAU y EAM

- ***Difusividad efectiva del Tarwi.***

Con respecto a la determinación de la difusividad efectiva del alcaloide y basándose en que la pared celular del Tarwi está formado por redes de polímeros. Requiere pasar por un proceso de tortuosidad, presentándose una forma circular-elíptica porosa, por ende es necesario generar modelos matemáticos que se adecuen a este fenómeno de transporte másico (Lee & Kim, 2019).

Para determinar la difusividad efectiva del Tarwi, y este presentar un comportamiento cinético se trabajó con la segunda ley de Fick en la Ecuación (2) (Crank, 1957):

$$\frac{\partial C_s}{\partial t} = D_s \frac{\partial^2 C_s}{\partial x^2} \dots\dots\dots (Ec. 2)$$

Donde para la aplicación de estas ecuaciones se considera:

C_s: Concentración de alcaloides en el grano (g/kg).

D_s: Constante de difusión (m²/s).

x: Distancia de la difusión de las moléculas (m).

t: Tiempo (s).

Al tiempo cero los alcaloides están distribuidos homogéneamente, y no hay gradientes de concentración de alcaloides, a la vez considerando que la muestra se asemeja a una esfera elíptica se utilizó la Ecuación de segundo orden como se representa en la Ecuación (3) (Lee & Kim, 2019; Li *et al.*, 2012; Singh & Heldman, 2014):

$$\frac{\partial C_t}{\partial t} = K(C_s - C_t)^2 \quad \dots\dots\dots (Ec. 3)$$

Donde:

C_t : Concentración de la extracción en un tiempo de proceso (g/kg).

C_s : Concentración del componente que se difunde (g/kg).

t: Tiempo (s).

k: Constante de velocidad.

Siguiendo el comportamiento difusivo del alcaloide, se genera la Ecuación (4) a partir de la Ecuación (2) y (3) respecto a la concentración con la Ecuación de la segunda ley de Fick para la ecuación de partículas con geometrías esféricas es representada en la Ecuación (4) (Bhagya Raj & Dash 2020; Lee & Kim, 2019; Martinez-Navarrete *et al.* 1999).

$$E = \frac{C_s - C_t}{C_s} = \frac{6}{\pi^2} \exp\left(-\frac{D_{eff}\pi^2 t}{r^2}\right) \quad \dots\dots\dots (Ec. 4)$$

Aplicando logaritmo natural a la ecuación obtenemos la Ecuación (5):

$$\ln E = \ln \frac{C_s - C_t}{C_s} = \ln\left(\frac{6}{\pi^2}\right) - \left(\frac{D_{eff}\pi^2 t}{r^2}\right) \quad \dots\dots\dots (Ec. 5)$$

Donde:

C_t : Concentración de la extracción en un tiempo de proceso (g/kg).

C_s : Concentración saturada del componente que se difunde (g / kg).

t: Tiempo (s).

D_{eff} : Difusividad efectiva (m^2/s).

r: Radio de difusión de la muestra (m).

h. Análisis sensorial

Considerando que la amargura está asociada con los alcaloides, es decir cuanto más amarga es una planta de lupino mayor es su contenido de alcaloides (Götz, 2014). Al someter los lupinus al proceso de hidratación, congelación para su posterior sonicación o aplicación de microondas, la textura y apariencia varía de acuerdo al tiempo, temperatura y potencias.

Por lo tanto, para su evaluación sensorial se realizó una prueba analítica de textura donde se entrenaron a jueces para la evaluación de textura, tomando en consideración las etapas de entrenamiento según Fermin, Venero, Conchado, & García (2009) y Flores (2015): Reclutamiento (reclutar candidatos y escoger los más aptos), selección (evaluar el potencial de los candidatos para describir y comunicar las percepciones sensoriales) y entrenamiento (detectar y reconocer texturas, conocer los conceptos de clasificación) para la formación de un panel sensorial.

Terminando el entrenamiento, se logró obtener la cantidad mínima requerida de 8 jueces entrados para evaluar el perfil de textura según Hernandez (2005), a través de una evaluación de los resultados obtenidos del juzgamiento y lograr una homogeneidad de criterios de calificación de los jueces. El tiempo que se tomó para el entrenamiento fue de 2 h/día durante 5 días, puesto que los jueces fueron egresados de la Escuela Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias y presentaban conocimientos previos de la evaluación sensorial de la prueba de textura y eran consumidores habituales del producto.

La ficha de evaluación de la prueba de textura se detalla en el Anexo 1 Tabla 20, considerando las cualidades mecánicas (dureza y fracturabilidad), geométricas (lisa y rugosa) y de sensación residual (fácil de romper) (Espinosa, 2007; Gavino *et al.* 2018). Estas últimas cualidades se evaluaron con el sentido del tacto con la ayuda de los dedos.

i. Análisis estadístico

Para este trabajo todos los análisis se realizaron por triplicado, usando un DCA (diseño completamente al azar), con los datos obtenidos se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con el fin de determinar si existen diferencias significativas entre los tratamientos usados, así mismo se realizaron pruebas de comparación múltiple Tukey y Duncan a fin de precisar diferencias entre tratamientos con un nivel de confianza del 95%. Los análisis de diseños experimentales se realizaron con el *software* R-estudio versión 4.0.2 (R Core, 2020).

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados están organizados de acuerdo a los objetivos planteados:

4.1. PARÁMETROS DE EXTRACCIÓN DE ALCALOIDES POR MICROONDAS

Luego de haber realizado los tratamientos a diferentes tiempos y potencias del *Lupinus mutabilis* hidratado y congelado como se muestra en la Tabla 7. Donde los tratamientos se realizaron a tres niveles de potencia de microondas 30 % (PM1 ó 1), 50 % (PM2 ó 2) y 70 % (PM3 ó 3) que corresponden a 270 W, 450 W y 630 W respectivamente.

Tabla 7: Extracción de alcaloides Quinolizidínicos por microondas.

| Corrida | Tratamiento EAM | Código de tratamiento | Potencia (W) | Tiempo (min) | g(lup)/100g(Tarwi) (±) |
|---------|--------------------|--------------------------|-----------------|-----------------|---------------------------|
| 0 | 0 | V1PM0 | 0 | 0 | 4.200 |
| 1 | 1 | V1PM13 | 270 | 3 | 4.183 |
| 2 | 1 | V1PM15 | 270 | 5 | 3.898 |
| 3 | 1 | V1PM17 | 270 | 7 | 3.458 |
| 4 | 1 | V1PM19 | 270 | 9 | 2.583 |
| 5 | 1 | V2PM115 | 270 | 15 | 3.185 |
| 6 | 1 | V1PM130 | 270 | 30 | 2.859 |
| 7 | 2 | V1PM23 | 450 | 3 | 3.872 |
| 8 | 2 | V1PM25 | 450 | 5 | 2.882 |
| 9 | 2 | V1PM27 | 450 | 7 | 2.342 |
| 10 | 2 | V1PM29 | 450 | 9 | 1.780 |
| 11 | 2 | V1PM215 | 450 | 15 | 1.580 |
| 12 | 2 | V1PM230 | 450 | 30 | 2.048 |
| 13 | 3 | V1PM33 | 630 | 3 | 1.920 |
| 14 | 3 | V1PM35 | 630 | 5 | 1.791 |
| 15 | 3 | V1PM37 | 630 | 7 | 1.598 |
| 16 | 3 | V1PM39 | 630 | 9 | 1.482 |
| 17 | 3 | V1PM315 | 630 | 15 | 1.705 |
| 18 | 3 | V1PM330 | 630 | 30 | 1.868 |

EAM: Extracción asistida por microondas.

La extracción de alcaloides por microondas desarrollada a diferentes tiempos y potencias pudo ser efectiva llegando a extraer hasta un 70.2 % del total de lupanina del Tarwi (4.98 g(lup)/100g(Tarwi)), reduciendo así hasta un 1.48 % de lupanina en la corrida 16 con código V1PM39 en 9 minutos que corresponde a 1.482 g(lup)/100g(Tarwi). Se observa que cuanto mayor es la potencia y tiempo de proceso presenta mejores resultados como se muestra en la Tabla 7. Sin descuidar que si se exceden los rangos de extracción de la potencia y el tiempo, pueden dañar la estructura de los componentes en el alimento y limitar su extracción (Xiong *et al.*, 2016). En la Figura 17a y 17b, se muestra la relación entre tratamientos con microondas y la cantidad de lupanina extraída en un diagrama 2D y 3D respectivamente,

donde se puede observar que la concentración de alcaloides del grano al tiempo 30 min y una potencia del 70 % (3), ya no disminuye, a pesar de ser suministrado otra dosis de agua este último detallado en la Tabla 4, debido a la evaporación que surge al suministrar mayor potencia. Como menciona Akhtar *et al.* (2012), las altas potencias con exposición prolongada siempre conlleva el riesgo de degradación térmica (la ruptura repentina de las células), lo que puede causar un aumento en la cantidad de extracto, pero ese extracto se convierte en una mezcla compleja de donde es difícil aislar un solo compuesto de interés.

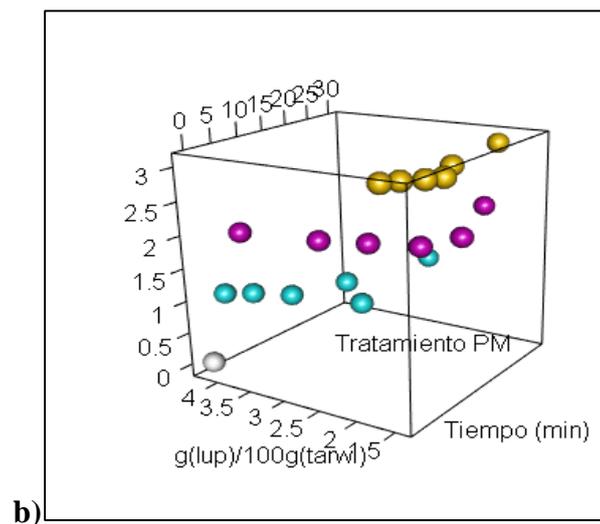
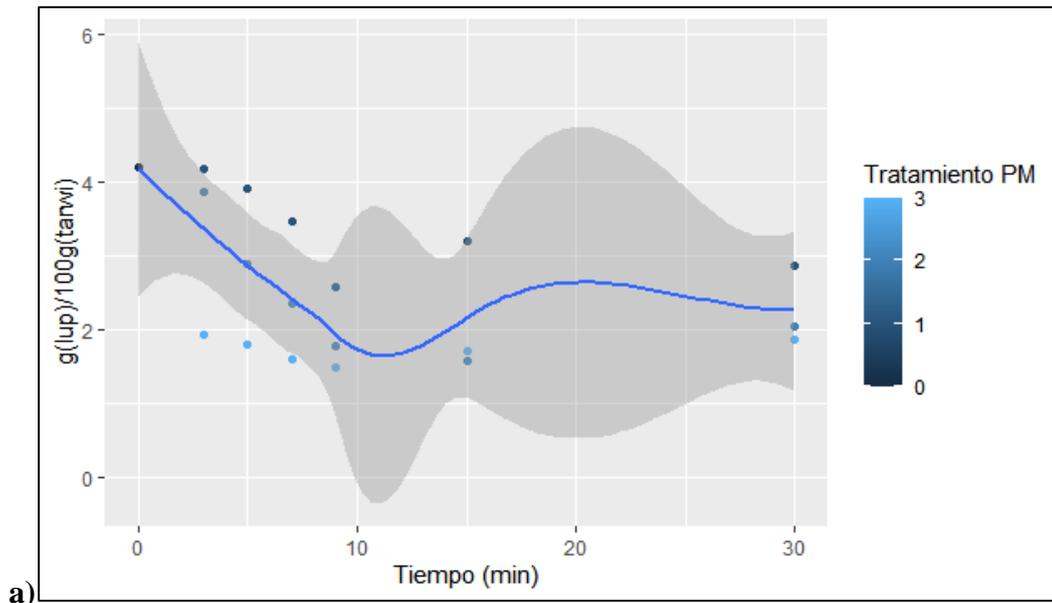


Figura 17: Extracción de alcaloides por microondas. a) Relación $g(\text{lupánina})/100g(\text{Tarwi})$ Vs Tiempo (min) Vs Tratamiento PM, b) Diagrama 3D de la extracción con microondas.

PM: Tratamiento con microondas 1(270W), 2 (450W) y 3 (630W).

En cuanto al efecto del tratamiento de microondas frente al contenido de lupanina extraído en $g(\text{lup})/100g(\text{Tarwi})$, la correlación se puede observar en la (Figura 53 del Anexo 1), las relaciones entre los tratamientos y las demás variables influyentes en la extracción de alcaloides. En la Figura 18, se muestra la comparación de medias de los tratamientos de microondas usados para la extracción de alcaloides.

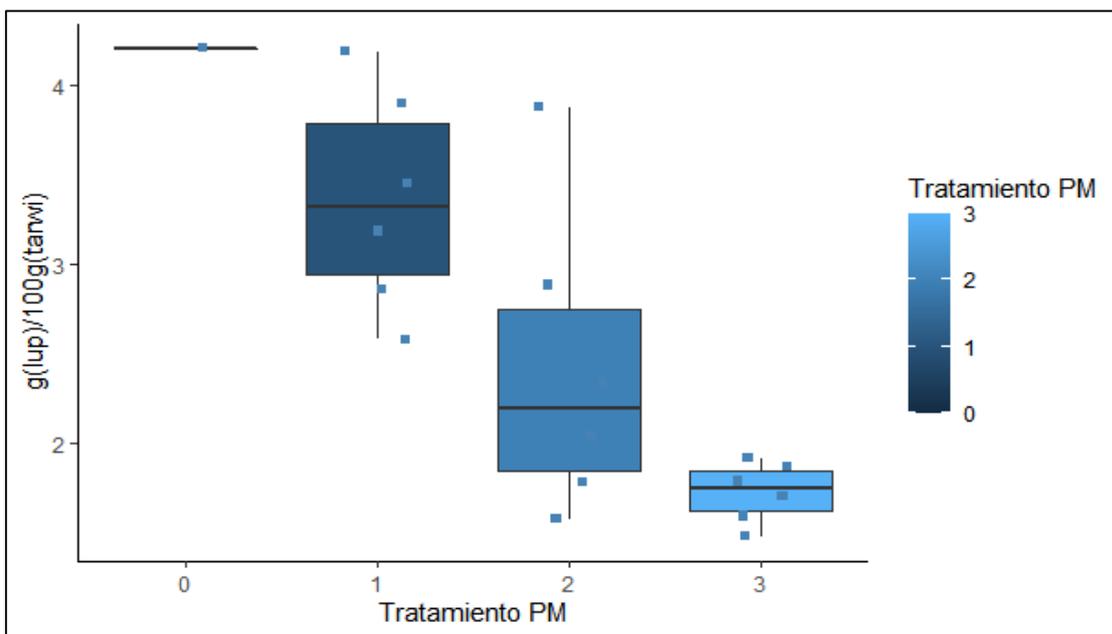


Figura 18: Comparación de medias de los tratamientos en la extracción de lupanina.

PM: Tratamiento con microondas EAM.

De acuerdo al análisis de varianza (descrita en el Anexo 2 , Tabla 22), se observa que existen diferencias significativas $p < 0.05$ entre los tres tratamientos (1, 2, y 3), representando así que la potencia suministrada a las muestras en un determinado tiempo generan diferentes concentración de la extracción de alcaloides, para evaluar esta comparación se realizó una prueba de comparación el test de Tukey (descrito en el Anexo 2, Tabla 23) donde el tratamiento 3 que representa el 70 % con 630 W de potencia como se muestra también en la Tabla 7, presenta mayores diferencias respecto al tratamiento 1 de 270 W y al tratamiento 2 con 450 W en cuanto a la cantidad de alcaloides extraídos.

El mayor rendimiento obtenido para la extracción de alcaloides por microondas fue el tratamiento 3 específicamente en la corrida 16 que representa el código V1PM39 con un nivel de potencia del 70 % representando 630 W durante 9 minutos, reduciendo de 4.200 a

1.482 g lupanina/100g como se muestra en la Tabla 7. Xiong *et al.* (2016), obtuvo mayores rendimientos a 200 W por un tiempo de 4 min para la extracción de alcaloides del loto por microondas con solución de metanol al 65 % reduciendo a 10.86 mg/g de alcaloides. De la misma forma Ganzler *et al.* 1990 (citado por Kaufmann & Christen, 2002), extrajeron esparteína segundo alcaloide con mayor concentración de los granos de *Lupinus mutabilis*, en un horno domestico mostrando un 20 % más respecto a uno con matraz agitado usando la misma solución de metanol: ácido acético (99: 1, v / v) reduciendo de 20 min a 4 ciclos de 30 s con un paso de enfriamiento en el medio para evitar que se dañe la muestra.

Como indica Chuyen *et al.* (2018), que para la extracción de componente con microondas se use solo por un tiempo corto y luego ser apagado por otro tiempo y encendido nuevamente generando ciclos en los tiempos de extracción, así de esta forma ayuda con la extracción de alcaloides. Explotando así ventajosamente las dos formas de energía entre la masa y el calor (Cengel, 2007). En la extracción de alcaloides para la flor de loto por (Xiong *et al.*, 2016), la mejor extracción fue a 200 W ya que cuando subió a 300 W no mostraba diferencias significativas en cuanto a la cantidad de alcaloide extraído. En nuestros resultados al ser expuestos a más tiempo continuo y mayor potencia de microondas puede dañar la muestra y perjudicar la extracción de alcaloides como se observa en la Figura 45a, del Anexo 1 (Gutiérrez, Ana *et al.*, 2016).

Debido a que no se realizaron los cambios de agua y a las altas temperaturas que llega el microondas con la potencia generada es muy probable que, haya ocurrido una saturación en el medio y la evaporación de agua que no permite un desamargado continuo dañando las muestras, a pesar de ser suministrado una dosis extra de agua de 200 ml para los últimos tratamientos de cada nivel de potencia.

4.2. PARÁMETROS DE EXTRACCIÓN DE ALCALOIDEOS POR ULTRASONIDOS

La extracción realizada por ultrasonidos efectuada a los mismos tiempos que el microondas, pero a diferentes frecuencias y niveles de potencia, se muestran en la Tabla 8. Donde el tratamiento 1 se trabajó a 40 kHz y 100 W, tratamiento 2 con 40 kHz y 27 W y el tratamiento 3 con 28 kHz y 100 W para evaluar los efectos existentes en la cantidad de lupanina extraída. Seguido por las muestras realizadas de control (corrida 19 y 20) y del segundo ecotipo

(corrida 20, 21, 23 y 24) cabe resaltar que estos resultados para ambos métodos se sacaron de los promedios puesto que la desviación estándar es baja.

Tabla 8: Extracción de alcaloides Quinolizidicos por ultrasonido.

| Corri -da | Tratamiento EAU | Código | Frecuencia (kHz) | Potencia (W) | Tiempo (min) | g(lup)/100g (Tarwi) (\pm) |
|--------------|--------------------|---------|---------------------|-----------------|-----------------|----------------------------------|
| 0 | 0 | V1IF0 | 0 | 0 | 0 | 4.200 |
| 1 | 1 | V1IF13 | 40 | 100 | 3 | 3.797 |
| 2 | 1 | V1IF15 | 40 | 100 | 5 | 4.175 |
| 3 | 1 | V1IF17 | 40 | 100 | 7 | 3.165 |
| 4 | 1 | V1IF19 | 40 | 100 | 9 | 2.953 |
| 5 | 1 | V1IF115 | 40 | 100 | 15 | 2.443 |
| 6 | 1 | V1IF130 | 40 | 100 | 30 | 2.655 |
| 7 | 2 | V1IF23 | 40 | 27 | 3 | 1.903 |
| 8 | 2 | V1IF25 | 40 | 27 | 5 | 1.828 |
| 9 | 2 | V1IF27 | 40 | 27 | 7 | 2.104 |
| 10 | 2 | V1IF29 | 40 | 27 | 9 | 2.066 |
| 11 | 2 | V1IF215 | 40 | 27 | 15 | 2.629 |
| 12 | 2 | V1IF230 | 40 | 27 | 30 | 2.227 |
| 13 | 3 | V1IF33 | 28 | 100 | 3 | 3.504 |
| 14 | 3 | V1IF35 | 28 | 100 | 5 | 3.151 |
| 15 | 3 | V1IF37 | 28 | 100 | 7 | 3.271 |
| 16 | 3 | V1IF39 | 28 | 100 | 9 | 2.711 |
| 17 | 3 | V1IF315 | 28 | 100 | 15 | 1.771 |
| 18 | 3 | V1IF330 | 28 | 100 | 30 | 2.589 |
| 19 | ST | V1M12 | 0 | 0 | 0 | 4.980 |
| 20 | ST | V2M12 | 0 | 0 | 0 | 5.160 |
| 21 | 0 | V2PM01 | 0 | 0 | 0 | 4.370 |
| 22 | 0 | V1PM01 | 0 | 0 | 0 | 4.200 |
| 23 | 1 | V2IF115 | 40 | 100 | 15 | 1.690 |
| 24 | 2 | V2IF215 | 40 | 27 | 15 | 3.416 |

ST: Sin tratamiento.

EAU: Extracción asistida por ultrasonidos.

En la Tabla 8, también se muestra la cantidad de alcaloides determinada por UHPLC. Para este método de extracción con ultrasonidos no se adiciono agua extra, debido a que aparentemente no generaron daños físicos y la temperatura no supera los 35 °C. En los tiempos superiores a los 15 min durante los tratamientos en algunos casos como se ve la Figura 19, la saturación de alcaloides en el líquido dentro del matraz no pudo generar más difusividad. Además una ultra sonicación indirecta, donde las ondas de sonido pasan por el agua y el recipiente de la muestra reduce su intensidad, la cavitación y la taza de extracción en comparación con una sonicación directa (Dzah *et al.*, 2020).

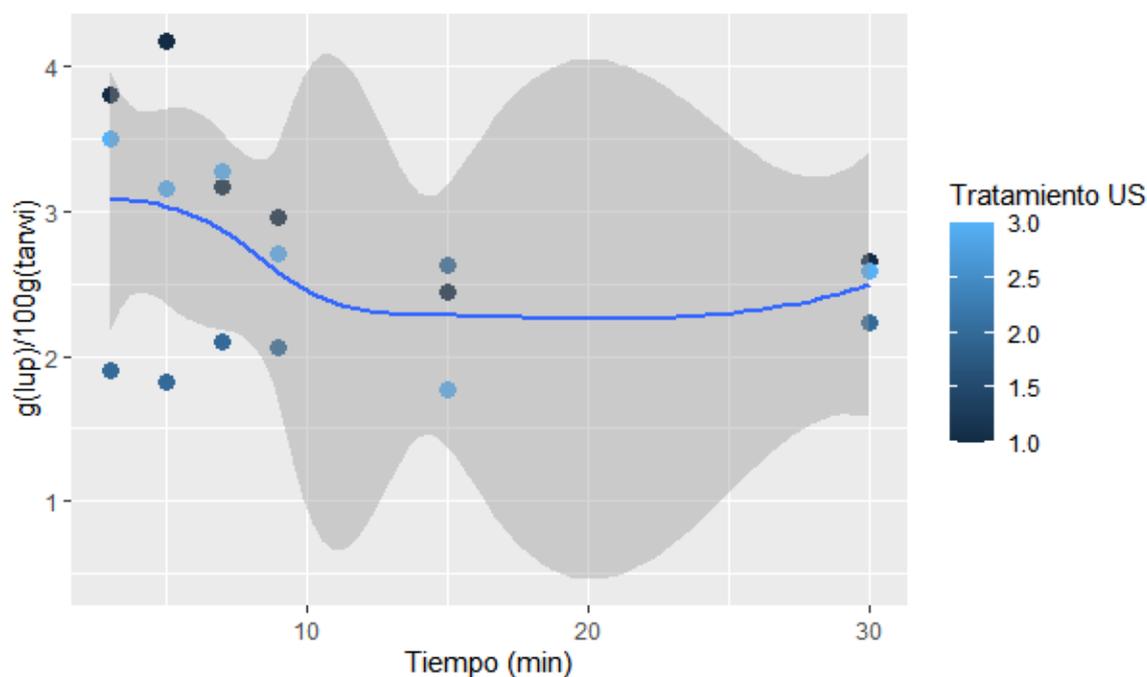


Figura 19: Relación $g(lupanina)/100g(Tarwi)$ Vs Tiempo (min) Vs Tratamiento US.

US: Tratamiento con ultrasonido EAU.

Las frecuencias más bajas generan burbujas más grandes y, por lo tanto, un colapso de la burbuja más violento. Sin embargo, en cuanto va aumentando la frecuencia hay más eventos de colapso por unidad de tiempo (Chemat *et al.*, 2017). Debido a esto es que existen las diferencias en la difusión de los alcaloides como se muestra en la Tabla 8 y la Figura 20, tanto la intensidad como la potencia son influyentes en el resultado, pero no con el tiempo debido al tiempo corto que fueron sometidos las muestras durante los primeros tratamientos de la extracción.

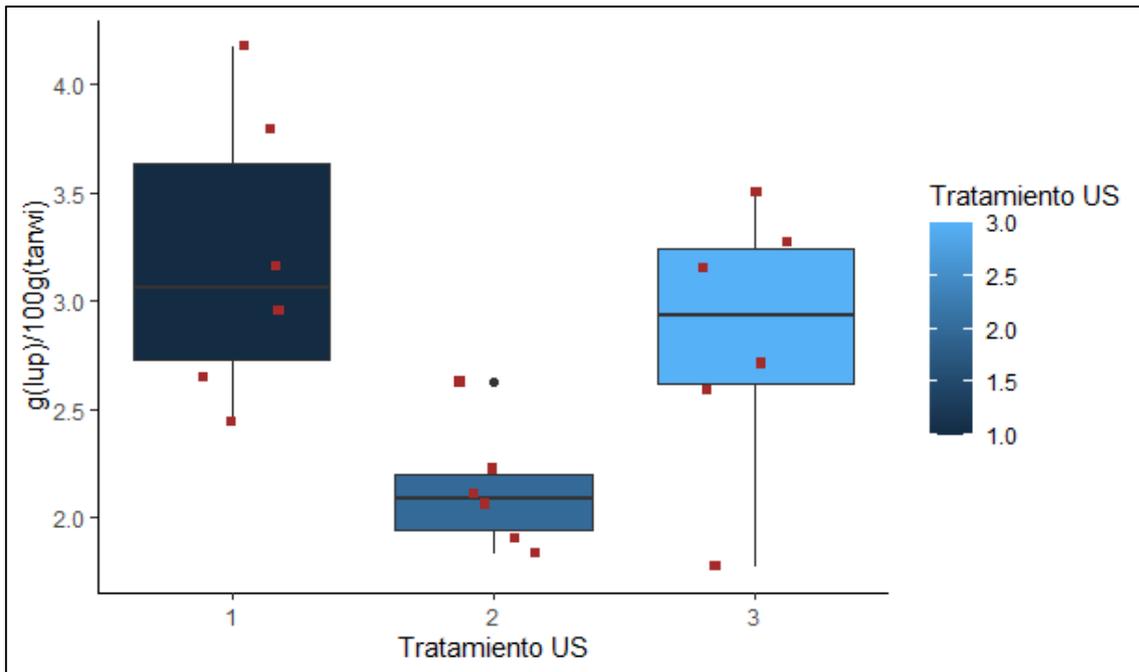


Figura 20. Comparación de tratamientos con ultrasonido frente a la extracción de lupanina.

US: Tratamiento con ultrasonido EAU.

Esta comparación de medias entre los métodos, de acuerdo al análisis de varianza (descrita en el Anexo 2, Tabla 24), existe cierta homogeneidad entre los tratamientos, para evaluar mejor estas comparaciones se realizó una prueba de Tukey (descrito en el Anexo 2, Tabla 25), donde los tres tratamientos son diferentes entre sí. Siendo el tratamiento 2 con 40 kHz y 27 W obtuvo mejores cantidades de extracción de lupanina respecto al tratamiento 3 con 28 kHz:100 W y tratamiento 1 con 40 kHz:100 W.

La potencia registrada del generador de la energía acústica o poder ultrasónico, se presenta en forma calorimétrica Vinatoru *et al.* (2017), por lo que se presenta como una desventaja ya que no está claro aún la potencia generada que entra realmente a la mezcla de extracción. Por ende, no se pudo precisar los datos específicos de la intensidad de potencia ultrasónica con la que llega a la muestra, sin dejar de lado que el material con la que se trabaja también es influyente, en la extracción de alcaloides. Como menciona García (2007), en la aplicación de energía acústica en el salado del queso y de la carne son influenciados significativamente por el material, por lo que no presentaron el mismo efecto. Reflejando así en las muestras de Tarwi que a menos potencia en Watts y más intensidad de frecuencia ayuda a la extracción

de alcaloides, pero se desconoce la relación directa detallada de estos factores en los tres tratamientos.

De acuerdo con Chemat *et al.* (2010) la aplicación de ultrasonido para la extracción de componentes los tiempos son reducidos con respecto a los métodos convencionales, demostrando así en los resultados en la Tabla 8, donde a pesar de ser tiempos cortos los alcaloides redujeron en más del 50 %.

En un trabajo de investigación realizado por Alberto C. Miano *et al.* (2019), para la hidratación de *L. mutabilis* con ultrasonidos, mejoró el tiempo de hidratación hasta un 40% a 25 °C específicamente entre 480 a 300 min y en cuanto al contenido de alcaloides menciona que la aplicación de ultrasonido reduce en un 21% respecto a un tratamiento convencional esto alcanzado después de 8 h usando ultrasonido desde la hidratación, considerando que el proceso de extracción de alcaloides por un proceso convencional se remoja durante 36 h y se cocina durante 1 h para llegar a un 1.5% de AQ. Para Aguilar-acosta, Serna-saldivar, Escalante-aburto, & Chuck-hern (2020), en 10 min redujo aproximadamente un 50% la concentración de alcaloides de la fracción de cuajada de proteínas en comparación con la extracción de alcaloides no ultrasónicas. Por lo que la aplicación de la congelación luego del hidratado ayudo significativamente en la extracción de alcaloides del Tarwi con ultrasonido, ayudando así a disminuir los tiempos a 15 min para llegar a una concentración del 1.7 % de alcaloides.

Investigación realizada por Yang *et al.* (2011), para la extracción de alcaloides de *Catharanthus roseus*, la mayor potencia se registró a 250 W con 50 kHz y esta fue la de mayor eficiencia y siendo necesarios superar los 20 min para que se rompa más las paredes celulares. De esta forma la nueva solución de extracción asistida por ultrasonido respecto a la convencional presenta una forma más abierta y fragmentada de la estructura celular, que facilita una extracción eficiente de alcaloides. Generándose un micro canal por el estrés mecánico debido a la cavitación acústica, y este fenómeno de transferencia en el grano esta debido al proceso de hidratación previa (Alberto C. Miano *et al.*, 2019). Para una futura investigación sería conveniente aplicar los cambios de agua seguido de un mayor tiempo de cavitación acústica sobre la muestra.

En la extracción de aceite de olivo, una alta frecuencia y menores potencias junto a un aumento de temperatura mejora los procesos y este al no ser invasivos ni destructivos son uno de los mejores métodos (Dzah *et al.*, 2020). Sin dejar de mencionar que a la versatilidad y capacidad que se pueda generar a escala industrial ayuda a disminuir el consumo de solventes orgánicos e inorgánicos con menos tiempos de extracción.

Para más detalles en la correlación se puede observar en la (Figura 54 del Anexo 1), las relaciones entre los tratamientos y las demás variables influyentes en la extracción de alcaloides por ultrasonido. En la (Figura 45b, del Anexo 1), se observa las muestras de Tarwi luego de ser asistida por ultrasonido durante 30 min.

4.3. DETERMINACIÓN DE LA DIFUSIVIDAD EFECTIVA DEL ALCALOIDE

El modelamiento de las ecuaciones para la difusividad efectiva (Deff.) es el de disminuir el consumo de energía, mejorar el rendimiento, optimizar el tiempo entre otros, expresados en nuestro tercer objetivo.

Considerando que Carvajal-Larenas *et al.* (2013), menciona que el coeficiente de difusión del alcaloide es constante durante el proceso de desamargado del lupino y la matriz polimérica está en cambio dinámico continuamente. En la Tabla 9, se muestran las difusiones efectuadas siguiendo la Ecuación (4) y (5) detallada en la metodología para los tratamientos de microondas y ultrasonido para la difusividad de la lupanina, considerando un radio de difusión igual a 7.738×10^{-3} m del diámetro más largo del Tarwi para cada tiempo del tratamiento para el (ecotipo Yunguyo), puesto que no se pudo realizar las cuantificaciones del contenido de lupanina de todos los tratamientos del segundo ecotipo debido a los costos elevados que demanda el método de cuantificación.

4.3.1. DIFUSIVIDAD EFECTIVA DE LUPANINA POR EAM

Tabla 9: Difusividad efectiva de la lupanina, asistida por microondas.

| Corrida | Código de Tratamiento | g(lup)/100 g(Tarwi) | Tiempo (min) | Deff. (m ² /s) | Deff. max a | |
|---------|-----------------------|---------------------|--------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------------|
| | | | | | 9 min (m ² /s) | Deff. trat. (m ² /s) |
| 1 | V1PM13 | 4.183 | 3 | -1.0895E-08 | | |
| 2 | V1PM15 | 3.898 | 5 | -5.1089E-09 | | |
| 3 | V1PM17 | 3.458 | 7 | -1.9185E-09 | | 9.8881E-10 |

| «continuación» | | | | | | |
|----------------|---------|-------|----|-------------|-----------|-------------|
| 4 | V1PM119 | 2.583 | 9 | 1.785E-09 | 1.78E-09 | |
| 6 | V1PM130 | 2.859 | 30 | 1.926E-10 | | |
| 7 | V1PM23 | 3.872 | 3 | -8.2886E-09 | | |
| 8 | V1PM25 | 2.882 | 5 | 9.9806E-10 | | |
| 9 | V1PM27 | 2.342 | 7 | 3.7083E-09 | | 3.27471E-09 |
| 10 | V1PM29 | 1.780 | 9 | 5.9673E-09 | 5.967E-09 | |
| 11 | V1PM215 | 1.580 | 15 | 4.3817E-09 | | |
| 12 | V1PM230 | 2.048 | 30 | 1.3182E-09 | | |
| 13 | V1PM33 | 1.920 | 3 | 1.5345E-08 | | |
| 14 | V1PM35 | 1.791 | 5 | 1.0621E-08 | | |
| 15 | V1PM37 | 1.598 | 7 | 9.2294E-09 | | |
| 16 | V1PM39 | 1.482 | 9 | 8.0255E-09 | 8.03E-09 | 8.11995E-09 |
| 17 | V1PM315 | 1.705 | 15 | 3.8713E-09 | | |
| 18 | V1PM330 | 1.868 | 30 | 1.6282E-09 | | |

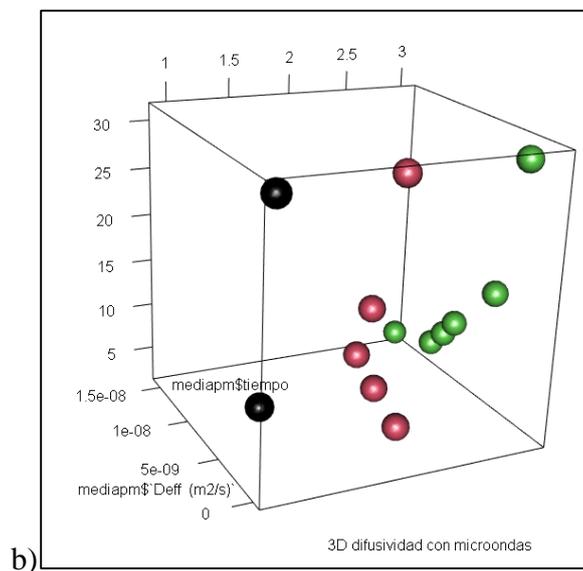
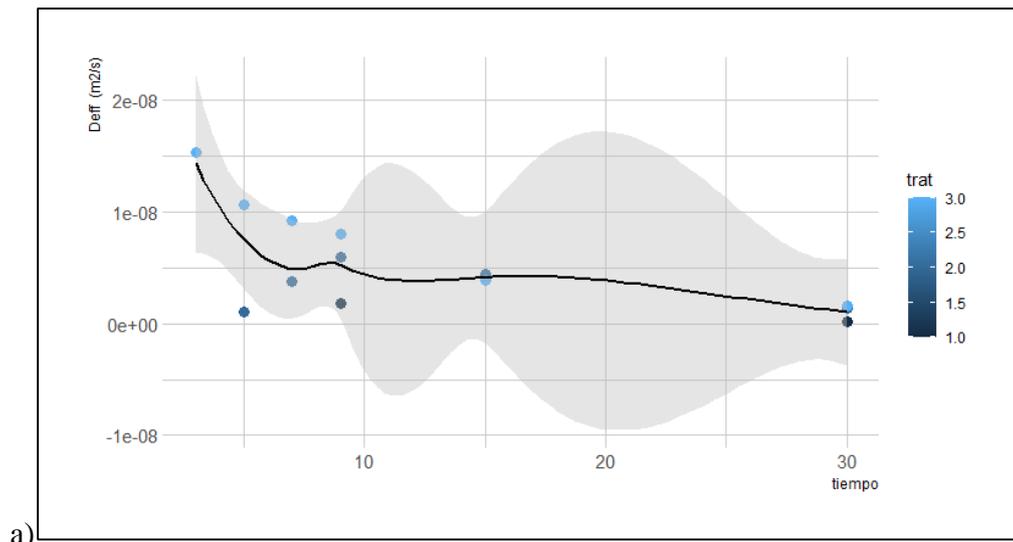


Figura 21: Deff. por microondas a) Deff. del Tarwi asistida por microondas respecto al tiempo, b) Deff. en diagrama 3D.

En la Tabla 9, se presentan las difusiones efectuadas de la lupanina en la extracción asistida por microondas el mejor tratamiento se efectúa con un nivel de potencia del 70% que representa una densidad de potencia de 31.2 W/g de muestra, logrando una difusividad efectiva de $8.12 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$. En cuanto a la máxima difusión de alcaloides basándose en el contenido de alcaloide extraído la muestra del código V1PM39, se dio en 9 min con una difusividad de $8.025 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ estas curvas de la difusividad se muestran en la Figura 21a y 21b, representado con un diagrama en 3D. Respecto a la cantidad extraída y la difusividad se puede apreciar los cambios de difusividad en el mismo tratamiento esto debido a los aumentos de temperatura en cada nivel de potencia. Es probable que algunos valores

negativos que se muestran de la difusividad en la Tabla 9, pueda ser debido al corto tiempo que se le dio al proceso de extracción tanto por microondas y ultrasonido.

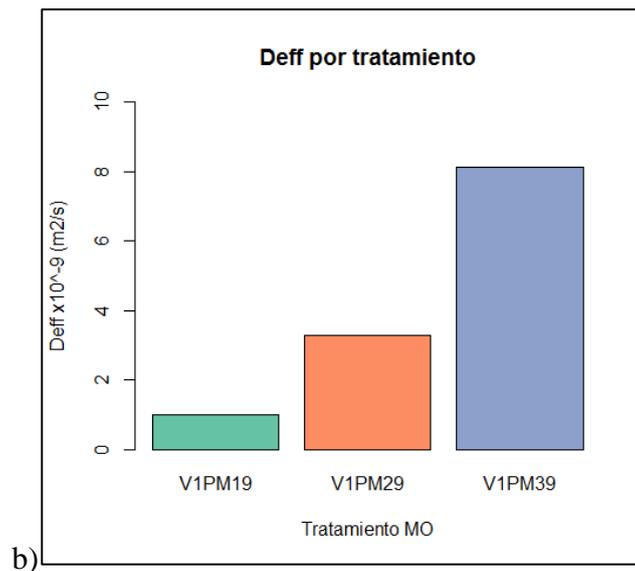
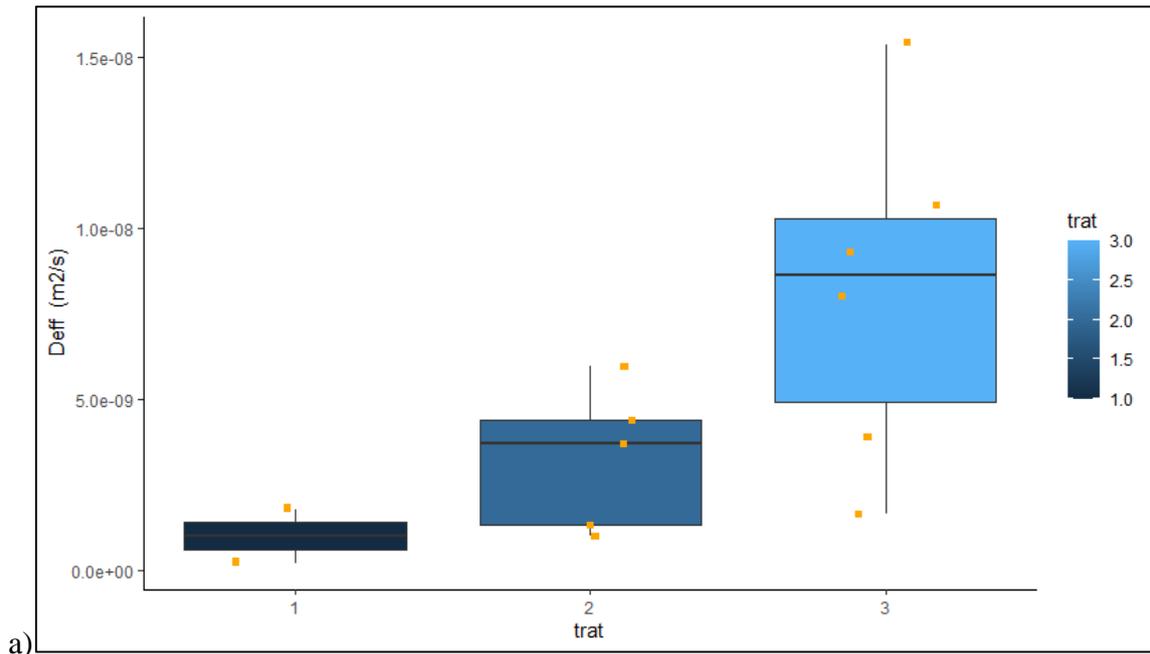


Figura 22: Relación entre difusividad efectiva y los tratamientos de microondas. a) Cuadro de medias de la Deff. por EAM, b) Deff. por tratamiento.

Trat: Tratamientos con microondas EAM.
MO: Microondas.

En la Figura 22a, se muestra la gráfica de caja y bigote de medias de la extracción por microondas, donde se observa que el mejor tratamiento es con un nivel de potencia 3 que

representa el 70 % de potencia (630 W), logrando una difusividad efectiva de 8.12×10^{-9} m²/s seguida del segundo con 50% de potencia (450 W) con una difusividad de 3.27471×10^{-9} m²/s y del tercer tratamiento del 30% de potencia (270 W) con 9.888×10^{-10} m²/s. En la Figura 22b, se muestra una gráfica de barras de la difusividad efectiva determinada de los tres tratamientos con microondas al tiempo de 9 minutos para cada uno, donde el tratamiento 3 (630 W) con código de tratamiento V1PM39 de color morado presenta mayor difusividad respecto al tratamiento 2 (450 W) con código V1PM29 y al tratamiento 1 (270 W) con código V1PM19.

De acuerdo al análisis de varianza (descrita en el Anexo 2 , Tabla 26), se observa que existen diferencias significativas $p < 0.05$ entre los tres tratamientos, representando así que la potencia de microonda suministrada a las muestras en un determinado tiempo generan diferentes valores de la difusividad efectiva, para evaluar esta comparación se realizó una prueba de comparación el test de Tukey (descrito en el Anexo 2, Tabla 27) donde el método 3 que representa el 70 % de la potencia suministrada a la muestra, presenta mayores diferencias respecto al tratamiento 2 y 1 en cuanto a la difusividad en m²/s, considerando que la difusividad es susceptible a cambios de temperatura en los tratamientos suministrados con microondas la temperatura es directamente proporcional a la potencia suministrada, por ende los cambios de difusividad entre tratamientos.

En la difusividad efectiva de antocianinas de la cáscara de uva se mejoró concomitantemente con el aumento de la potencia de microondas, lo que resulta en una disolución más rápida de antocianinas en el solvente (Li *et al.*, 2012). De la misma forma se observa en nuestros resultados los mejores valores para el tratamiento 3 que refleja un mayor nivel de potencia de 70 % que es referente a 630 W.

4.3.2. DIFUSIVIDAD EFECTIVA DE LUPANINA POR EAU

En la Tabla 10. Se muestra la difusividad efectiva de la lupanina extraída con tres potencias de ultrasonidos.

Tabla 10: Difusividad efectiva de la lupanina, asistida por ultrasonidos.

| Corrida | Código de Tratamiento | g(lup)/100g (Tarwi) | Tiempo (min) | Deff. (m ² /s) | Deff. max. a 9 min (m ² /s) | Promedio de Deff. por trat. (m ² /s) |
|---------|-----------------------|---------------------|--------------|---------------------------|--|---|
| 0 | V1IF0 | 4.20 | - | - | | |
| 1 | V1IF13 | 3.797 | 3 | -7.6336E-09 | | |
| 2 | V1IF15 | 4.175 | 5 | -6.4972E-09 | | |
| 3 | V1IF17 | 3.165 | 7 | -6.4107E-10 | | 7.22845E-10 |
| 4 | V1IF19 | 2.953 | 9 | 2.7835E-10 | 2.7835E-10 | |
| 5 | V1IF115 | 2.443 | 15 | 1.4473E-09 | 1.4473E-09 | |
| 6 | V1IF130 | 2.655 | 30 | 4.4288E-10 | | |
| 7 | V1IF23 | 1.903 | 3 | 1.5641E-08 | | |
| 8 | V1IF25 | 1.828 | 5 | 1.0201E-08 | | |
| 9 | V1IF27 | 2.104 | 7 | 5.2561E-09 | | 2.09355E-09 |
| 10 | V1IF29 | 2.066 | 9 | 4.2951E-09 | 4.2951E-09 | |
| 11 | V1IF215 | 2.629 | 15 | 9.5097E-10 | 9.5097E-10 | |
| 12 | V1IF230 | 2.227 | 30 | 1.0346E-09 | | |
| 13 | V1IF33 | 3.504 | 3 | -4.9227E-09 | | |
| 14 | V1IF35 | 3.151 | 5 | -8.062E-10 | | |
| 15 | V1IF37 | 3.271 | 7 | -1.1154E-09 | | 1.7933E-09 |
| 16 | V1IF39 | 2.711 | 9 | 1.2384E-09 | 1.2384E-09 | |
| 17 | V1IF315 | 1.771 | 15 | 3.6145E-09 | 3.6145E-09 | |
| 18 | V1IF330 | 2.589 | 30 | 5.2701E-10 | | |

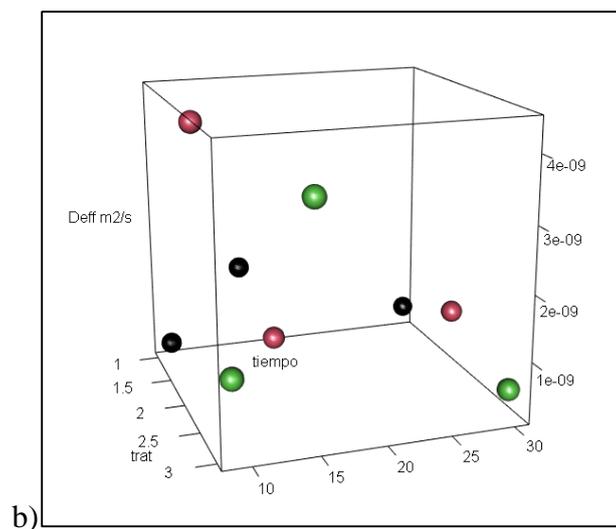
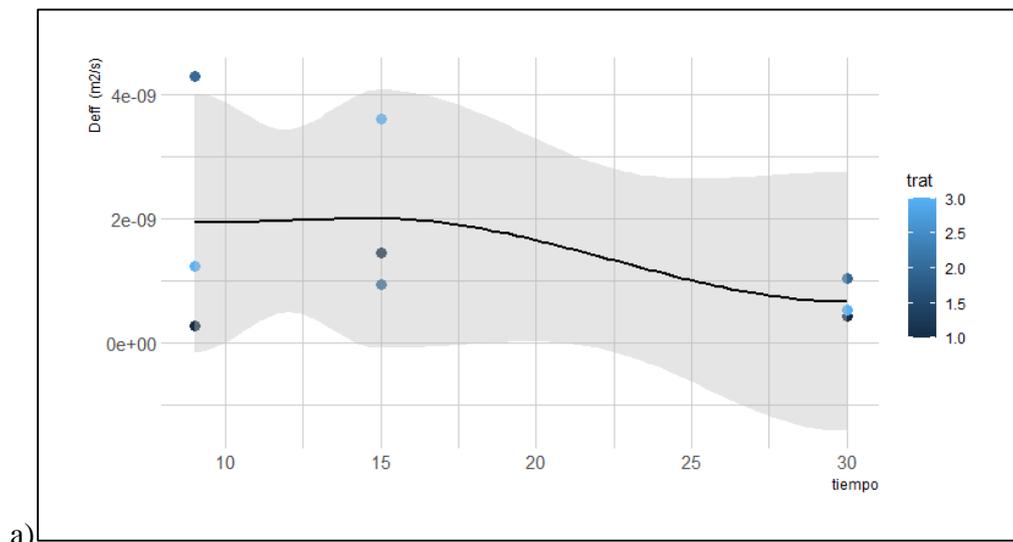


Figura 23: Curva de Deff. del Tarwi asistida por ultrasonidos. a) Deff. por tratamiento, b) Deff. en diagrama 3D.

Trat: tratamiento con ultrasonido EAU.

Se entiende que el calor como la masa se transfieren de las regiones más concentradas hacia las menos concentradas, por ende si no existe diferencia entre las variables de una especie en regiones diferentes de un medio, no habrá transferencia de masa (Cengel, 2007). Las implosiones violentas generadas por los ultrasonidos se fragmentan o interrumpen la superficie de la matriz sólida, mejorando la transferencia de masa y acelerando la difusión

(Chemat *et al.*, 2017). Teniendo en cuenta que los ultrasonidos no generan rangos elevados de temperatura durante el proceso de extracción, la difusividad en nuestros resultados no cambió mucho en los diferentes niveles de frecuencia suministradas como se observa en la Figura 23a la curva de la difusividad efectiva por tratamiento y en la Figura 23b la relación en 3D de la difusividad, tiempo y tratamiento de ultrasonido.

En la Figura 24, se muestra la extracción por ultrasonido donde el mejor tratamiento es el 2 y 3 con un nivel de frecuencia de 40 kHz: 27 W y 28 kHz: 100 W, logrando una difusividad efectiva de $2.094 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ y $1.793 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ respectivamente. En cuanto a la difusividad respecto al tiempo y concentración de lupanina como se muestra en la Figura 24b, la muestra con código de tratamiento V1IF315 del tratamiento 3 presentó mayor difusividad con $3.614 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$, seguido por V1IF115 del tratamiento 1 con $1.447 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ y V1IF215 del tratamiento 2 con $0.951 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ al tiempo de 15 minutos para los tres tratamientos como se observa gráficamente en la Figura 24b, estos valores registrados son dependientes de la difusividad conjunta por tratamiento que presentan ciertas diferencias como se observa en la Tala 10.

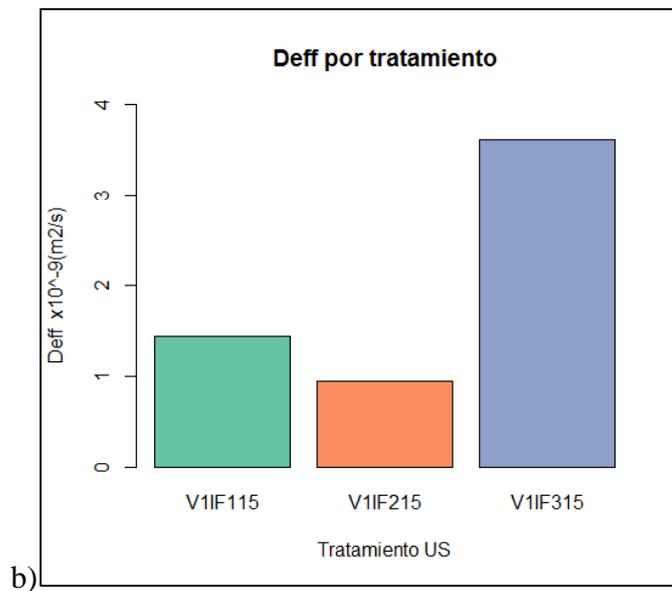
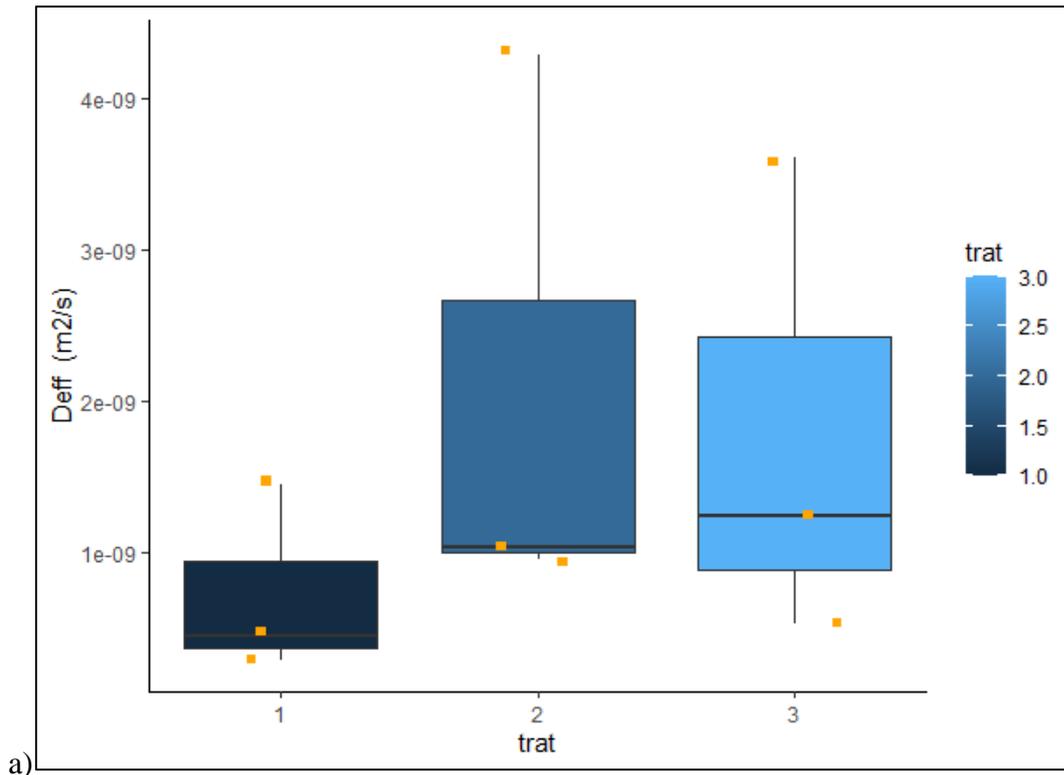


Figura 24. Deff. con ultrasonido de la lupanina. a) Relación entre difusividad efectiva y los tratamientos de ultrasonidos, b) Relación Deff. y tratamientos al tiempo 15 min.

US: Ultrasonido- extracción asistida con ultrasonido EAU.

De acuerdo al análisis de varianza (descrita en el Anexo 2, Tabla 28), se observa que no existen diferencias significativas con un $p > 0.05$ entre los tres tratamientos, representando que las diferentes frecuencias suministradas no presentaron altos rangos de diferencia en la

cinética además que al ser tiempos cortos los valores de la difusividad efectiva se muestran aparentemente homogéneas. Para evaluar esta comparación se realizó una prueba de comparación el test de Tukey (descrito en el Anexo 2, Tabla 29) donde el método 2 (40 kHz: 27 W), presenta mayor diferencia respecto al tratamiento 3 (28 kHz: 100 W) y 1 (40 kHz: 100 W) en cuanto a la difusividad efectiva en m^2/s .

Según Crank (1975) y Walstra (2003) citado por Carvajal-Larenas *et al.* (2013) , los coeficientes de difusión dependen del contenido de agua de los polímeros, y el Tarwi al estar inicialmente con un porcentaje de humedad del 7.9 % y terminar con un 67.9 % luego del proceso de hidratado y congelado ayuda a la difusividad del alcaloide. Como también indica Martínez-Navarrete *et al.* (1999), que los cambios en la difusividad son afectadas por la temperatura, el contenido de humedad y la porosidad del alimento. En nuestros resultados estas diferencias de difusividad se presentaron debido a los diversos tratamientos a las que se les impuso puesto que genera aumentos de temperatura en cada tratamiento con microondas y ultrasonidos.

Estos resultados reflejan la diferencia, que existe en la velocidad de difusión de la extracción con ultrasonidos y microondas respecto a la determinada por Carvajal-Larenas *et al.* (2014), que indica un coeficiente de difusividad para el lupino entre los 10^{-10} y 10^{-11} m^2/s y una distancia de difusión de 6.4×10^{-3} m. y en sus resultados obtuvieron una difusividad aproximada de 8.32×10^{-11} m^2/s trabajando un tiempo de desamargado de 5,7 días, respecto a los 8.12×10^{-9} m^2/s de la difusividad con microondas y 2.094×10^{-9} m^2/s con ultrasonidos. Realizando una predicción con la ecuación planteada anteriormente (Ec. 4) para llegar al 0.02 g/100g de lupanina en el Tarwi que pide la NTP 205.090 INACAL (2019), para consumo humano se lograría en 62.51min con microondas y con ultrasonidos llegaría al requerimiento de alcaloides en 242.44 minutos. Es necesario destacar, que estas predicciones son aproximadas puesto que al aumentar la temperatura y otros factores varían este resultado.

4.3.3. DIFUSIVIDAD EFECTIVA POR ECOTIPOS

En la Tabla 11, se muestra las diferencias entre los ecotipos estudiados en este trabajo el ecotipo de Yunguyo (V1) presento menor cantidad de alcaloides de muestra cruda que el ecotipo de Seccelambra-Cusco (V2) con 4.980 y 5.160 g/100g de Tarwi respectivamente,

por lo que reflejado en la difusividad el ecotipo 2 presento mayor difusividad de alcaloides durante el proceso de congelado, respecto a la extracción con microondas el ecotipo 1 presento mayor difusividad respecto al ecotipo 2, y frente a la extracción con ultrasonido como se expresa en la Figura 25b, las difusividades son diferentes entre sí en cada ecotipo e intensidad de frecuencia a tiempos iguales.

Tabla 11: Difusividad efectiva calculada por ecotipos.

| Ecotipo | Código del Tratamiento | Método de extracción | Potencia suministrada | Tiempo (min) | g(lup)/100g(Tarwi) | Deff. calculada (m²/s) |
|---------------------|-------------------------------|-----------------------------|------------------------------|---------------------|---------------------------|--|
| | V1PM0 | EAM | Congelada | 1 | 4.200 | 3.310 x 10 ⁻⁸ |
| | V1 PM1 | EAM | 270 W | 15 | 2.859 | 9.890 x 10 ⁻¹⁰ |
| Yunguyo | | | | | | |
| | V1IF115 | EAU | 40kHz:100W | 15 | 2.443 | 1.447 x 10 ⁻⁹ |
| | V1IF215 | EAU | 40kHz:27W | 15 | 2.629 | 9.509 x 10 ⁻¹⁰ |
| | V2PM0 | EAM | Congelada | 1 | 4.370 | 3.350 x 10 ⁻⁸ |
| | V2PM11 | EAM | 270 W | 15 | 3.185 | 1.030 x 10 ⁻¹⁰ |
| Secce-lambra | | | | | | |
| | 5 | | | | | |
| | V2IF1152 | EAU | 40kHz:100W | 15 | 1.689 | 4.170 x 10 ⁻⁹ |
| | V2IF2151 | EAU | 40kHz:27W | 15 | 3.416 | 5.750 x 10 ⁻¹⁰ |

EAM: Extracción asistida por microondas.

EAU: Extracción asistida por ultrasonido.

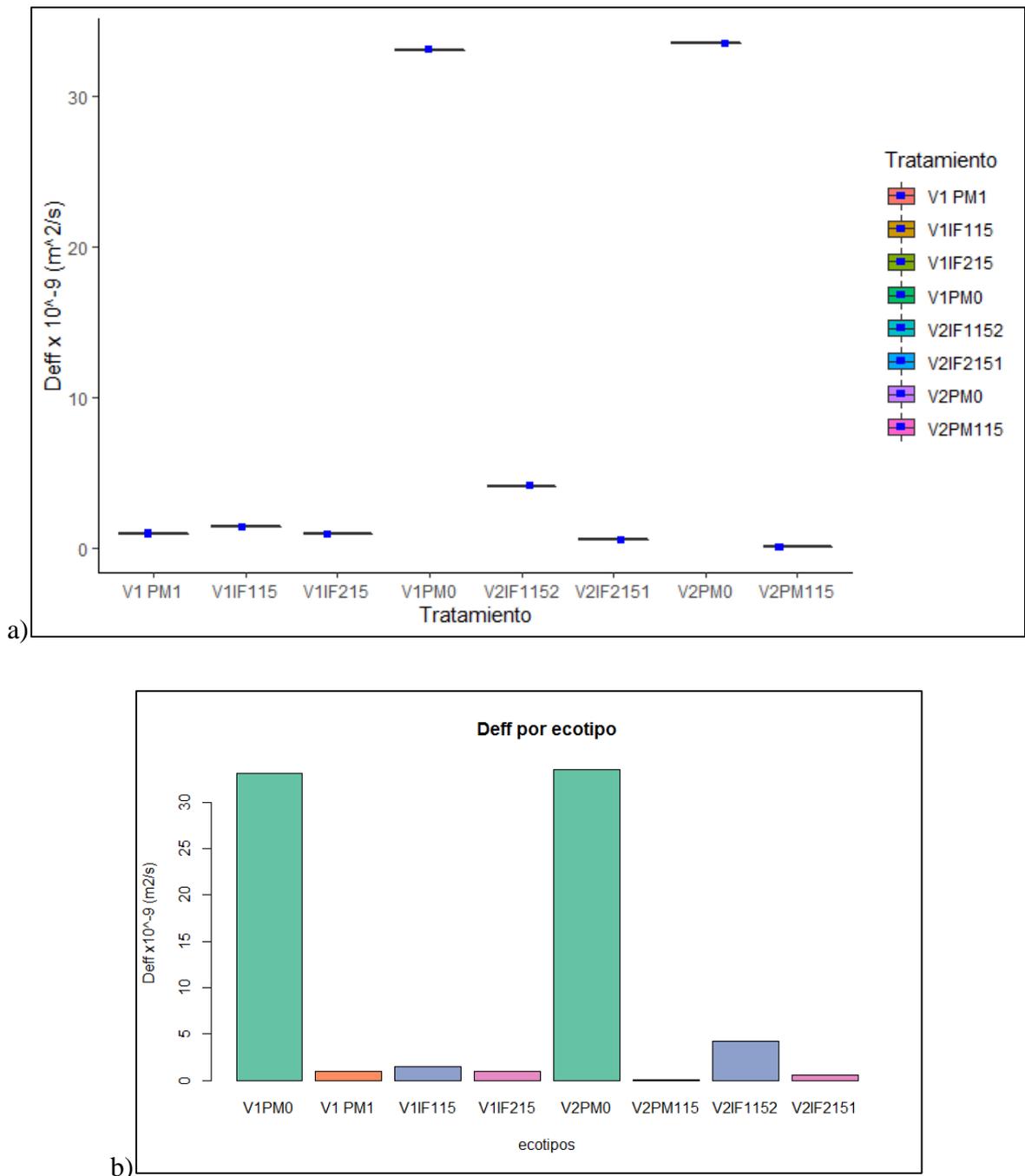


Figura 25. Difusividad efectiva calculada por ecotipos. a) Comparación de medias de Deff. por ecotipo, b) Deff. por ecotipo.

El análisis de varianza entre ecotipos muestra un nivel de significancia $p > 0.05$ indicando ser muestras homogéneas, para tener mayor certeza de la diferencias existentes entre ecotipos se realizó una comparación de medias de Tukey (descrita en el Anexo 2 , Tabla 30a), donde se observa las diferencias existente entre los ecotipos y la influencia del nivel de potencia suministrada reflejada en la difusividad efectiva mostrada en la Tabla 11 y

siguiendo la Figura 25a y la (Tabla 30b, Anexo 2), las diferencias de difusividad entre el tratamiento de códigos V1PM0 y V2PM0 que representan al grano hidratado y congelado del ecotipo 1 y 2 logrando obtener mayores valores de difusividad respecto a los tratamientos posteriores que fueron sometidos, siendo así que el hidratado y el proceso adicional de congelado son influyentes en la difusividad del alcaloide, considerando que en la cristalización el soluto difunde a través de las aguas madres hacia los cristales depositándose en la superficie del sólido (Castillo, 2002). Siguiendo el cuadro de comparaciones el ecotipo 2 presento mayor difusividad de la lupanina con asistencia de ultrasonido durante 15 min que el ecotipo 1 (V2PM0-V2IF115; V1PM0-V1IF115), así mismo en la extracción con microondas las muestras del ecotipo 1 presentaron mayores valores de difusividad efectiva que el ecotipo 2 (V1PM0-V1PM1; V2PM0-V2PM115).

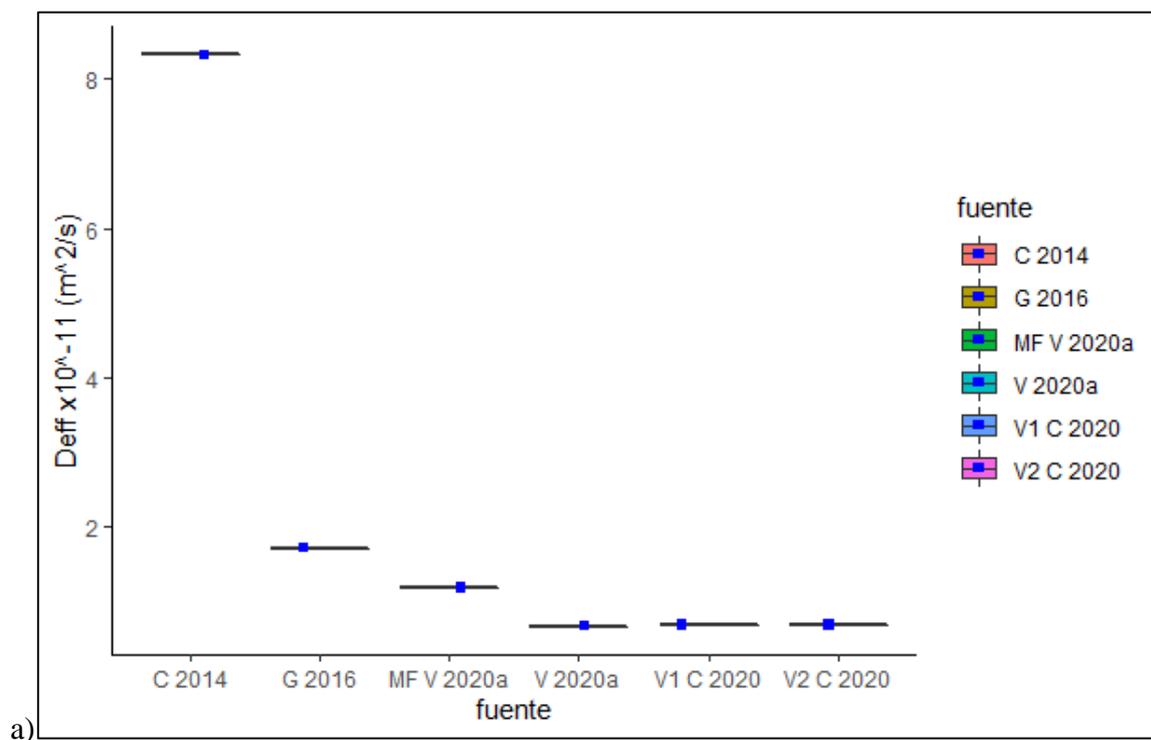
Según Carvajal-Larenas *et al.* (2014), la velocidad (duración) del proceso de desamargado del Tarwi, depende del tamaño de las moléculas de alcaloide, temperatura, solvente, viscosidad del solvente, tamaño, agua y nivel de agitación del sistema. Frick *et al.* (2017) y Resta, *et al.* (2005), pelaron y desgrasaron el grano siendo estos factores también influyentes en la difusividad. Además para Bhagya Raj & Dash (2020), el coeficiente de difusión efectivo de extracción de Fito componentes de la fruta del dragón se incrementó con el aumento de la temperatura y la transferencia de masa para los tres tratamientos de EAU.

4.3.4. DIFUSIVIDAD EFECTIVA TEÓRICA CALCULADA DEL DESAMARGADO CONVENCIONAL

El proceso de desamargado convencional del Tarwi ha sido usado desde años anteriores, variando este en el tiempo de lavado pudiendo pasar desde ríos, o estacionarias como en tinas con cambios de agua en diferente tiempo, en la Tabla 12 se presenta algunas recopilaciones de varios autores usando esta metodología convencional variando entre sí en los tiempos y algunas modificaciones que realizaron en el hidratado y desamargado. Donde con los datos obtenidos se pudo determinar la difusividad de la lupanina en “m²/s” para cada tratamiento realizada por el autor. En la Figura 26a, se presenta una comparación de medias de la difusividad efectiva determinada del método convencional de desamargado por varios autores y en la Figura 26b, la relación de difusividad efectiva con el método de extracción convencional por el autor.

Tabla 12: Difusividad efectiva calculada del método de desamargado convencional de diversos autores.

| Tratamiento | Fuente | g(lup)/100g(Tarwi) | Tiempo (min) | Deff. calculada (m ² /s) |
|-------------|------------|--------------------|--------------|-------------------------------------|
| V1 MT 1 | V1 C 2020 | 0.001 | 7260 | 6.93 x 10 ⁻¹² |
| V2MT 1 | V2 C 2020 | 0.002 | 7260 | 6.93 x 10 ⁻¹² |
| V1 MT 2 | G 2016 | 0.006 | 2910 | 1.72 x 10 ⁻¹¹ |
| Vd MT 3 | V 2020a | 0.722 | 4440 | 6.78 x 10 ⁻¹² |
| Vd MT 4 | MF V 2020a | 0.538 | 3000 | 1.19 x 10 ⁻¹¹ |
| v1 MT 1 | C 2014 | 0.200 | 8208 | 8.32 x 10 ⁻¹¹ |



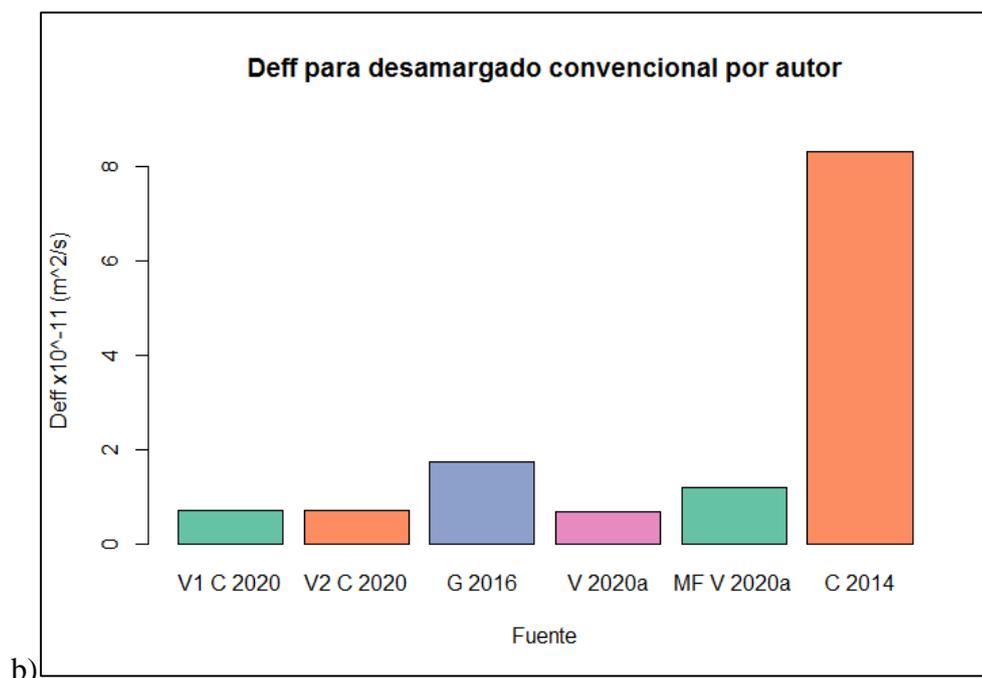


Figura 26. Métodos de desamargado convencional en cuanto a la Deff. a) Comparación de medias, b) Relación Deff. Vs método de extracción convencional por el autor.

De acuerdo a la comparación de varianzas realizados (descritos en Tabla 31 del Anexo 2), existen diferencias solo en algunos autores, puestos realizan diversos cambios en el proceso para mejorar la difusividad el desamargado convencional, donde la extracción realizada por Carvajal, 2014 presento mayor difusividad seguida por Gutierrez, 2016 y de más autores singo homogéneas en cuanto a su difusividad efectiva, como se observan en la Figura 26a y 26b.

4.3.5. DIFUSIVIDAD EFECTIVA DE LOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN

Puesto que la difusividad efectiva es baja en relación de un líquido frente a un alimento en sólido, cualquier convección en la superficie mejorará la transferencia de masa dentro de la capa límite en la superficie del objeto (Singh & Heldman 2014; Angiolillo *et al.* 2015). En nuestros resultados esta aplicación del congelado de las muestras hidratadas para luego ser asistidas por microondas y ultrasonidos mejoró notoriamente en la difusividad efectiva frente al método convencional, como se muestra en la Tabla 13 y la Figura 27, de acuerdo a la prueba de comparación de medias de Tukey (descrita en el Anexo 2, Tabla 32) existe diferencia significativa de la difusividad efectiva de la lupanina, extraída con microondas (EAM) y ultrasonido (EAU) respecto a la convencional. Así mismo en cuanto al tiempo la EAM y la EAU son tiempos mucho menores respecto al convencional. En la Figura 27b, se

observa claramente las diferencias de difusividad de EAM con $8.12 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$, frente a $2.094 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ y $0.00693 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ de EAU y convencional respectivamente, debido a que luego de congelado la muestra al ser expuestas con el microondas se generó mayor temperatura logrando difundir mejor por la membrana celular y los ultrasonidos ayudaron con la cavitación de ondas de sonido, que ayudaron a aumentar la difusividad frente a un desamargado convencional del Tarwi. En la (Figura 55 del Anexo 1), se muestra también la relación de la difusividad y el contenido de alcaloides extraído entre métodos de extracción.

Tabla 13: Difusividad entre metodologías de extracción de alcaloides.

| Método de extracción | Código del método | Potencia suministrada | Tiempo (min) | Lupanina (g/100g) | Deff. $\times 10^{-9}$ (m^2/s) |
|-----------------------------|--------------------------|------------------------------|---------------------|--------------------------|---|
| EAU | 1 | 28 kHz: 100 W | 15 | 1.771 | 2.094 |
| EAM | 2 | 630 W | 9 | 1.482 | 8.12 |
| CONVENCIONAL | 3 | 0 | 7260 | 0.001 | 0.0069 |

EAM: Extracción asistida con microondas.

EAU: extracción asistida con ultrasonido.

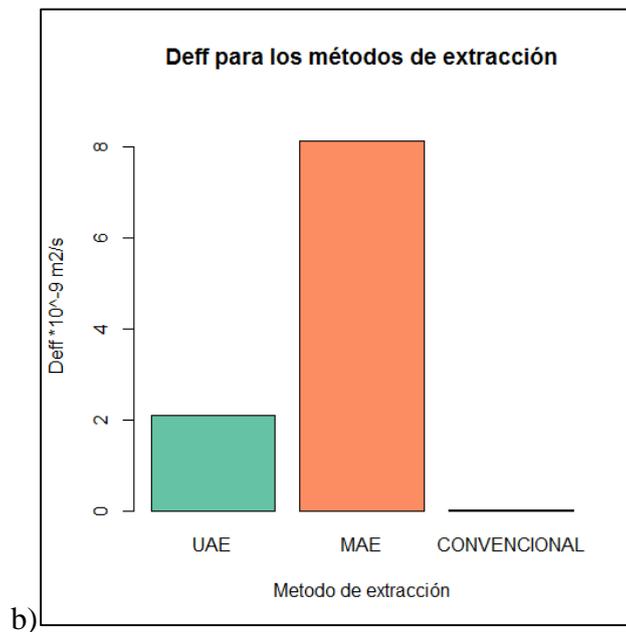
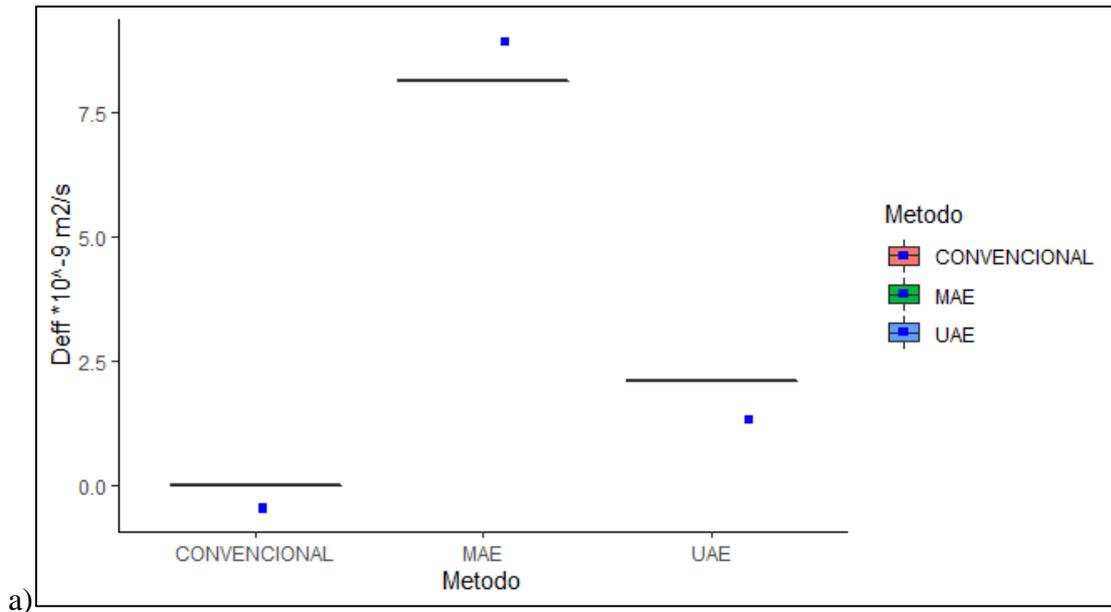


Figura 27: Difusividad efectiva de métodos de extracción convencional, microondas y ultrasonido. a) Comparación de medias de $Deff$, b) Relación $Deff$. vs método de extracción.

UAE: Siglas en inglés de la extracción asistida con ultrasonido.

MAE: Siglas en inglés de la extracción asistida con microondas.

Durante el remojo, la cubierta de las semillas de lupino dulce de Australia relentiza la inhibición del agua a la semilla, restringiendo su expansión e impermeabilidad y, por lo tanto, disminuye la eficiencia de difusión de alcaloides (Zhong *et al.*, 2018). En nuestras muestras no se retiraron la cubierta de las semillas, por lo que pueden ser también influyentes en los resultados, no logrando mayor difusión.

La difusividad de los alcaloides puede disminuir al paso de tiempo largos Chuyen *et al.* (2018), puesto que al aumentar la temperatura la viscosidad disminuye, pero la solución empieza a ebullición y generar cambios en la estructura y dificultar la salida del alcaloide. Esto se ve reflejado en los procesos de extracción convencional puesto que tiempos mayores una hora de cocción disminuye la difusividad del Tarwi como indica (Gutiérrez, *et al.* 2016). En los tratamientos registrados no se sometieron a largos tiempos, sin embargo, sería conveniente evaluar los cambios estructurales y fisicoquímicos que pueden haber surgido.

4.4. ANÁLISIS CUALITATIVO

En el caso de los alcaloides extraídos por microondas y ultrasonido, en la Figura 28 se muestra el líquido desamargado se observa las diferencias de color por cada ecotipo, método, tratamiento y tiempo al que fueron sometidos. Siendo más oscuras los solventes por el método de extracción de microondas Figura 28a, respecto a las de ultrasonido Figura 28b, que son menos turbias y la muestra del Tarwi congelado como se ve en la Figura 28c, el color es aún más oscuro que el resto de los tratamientos.

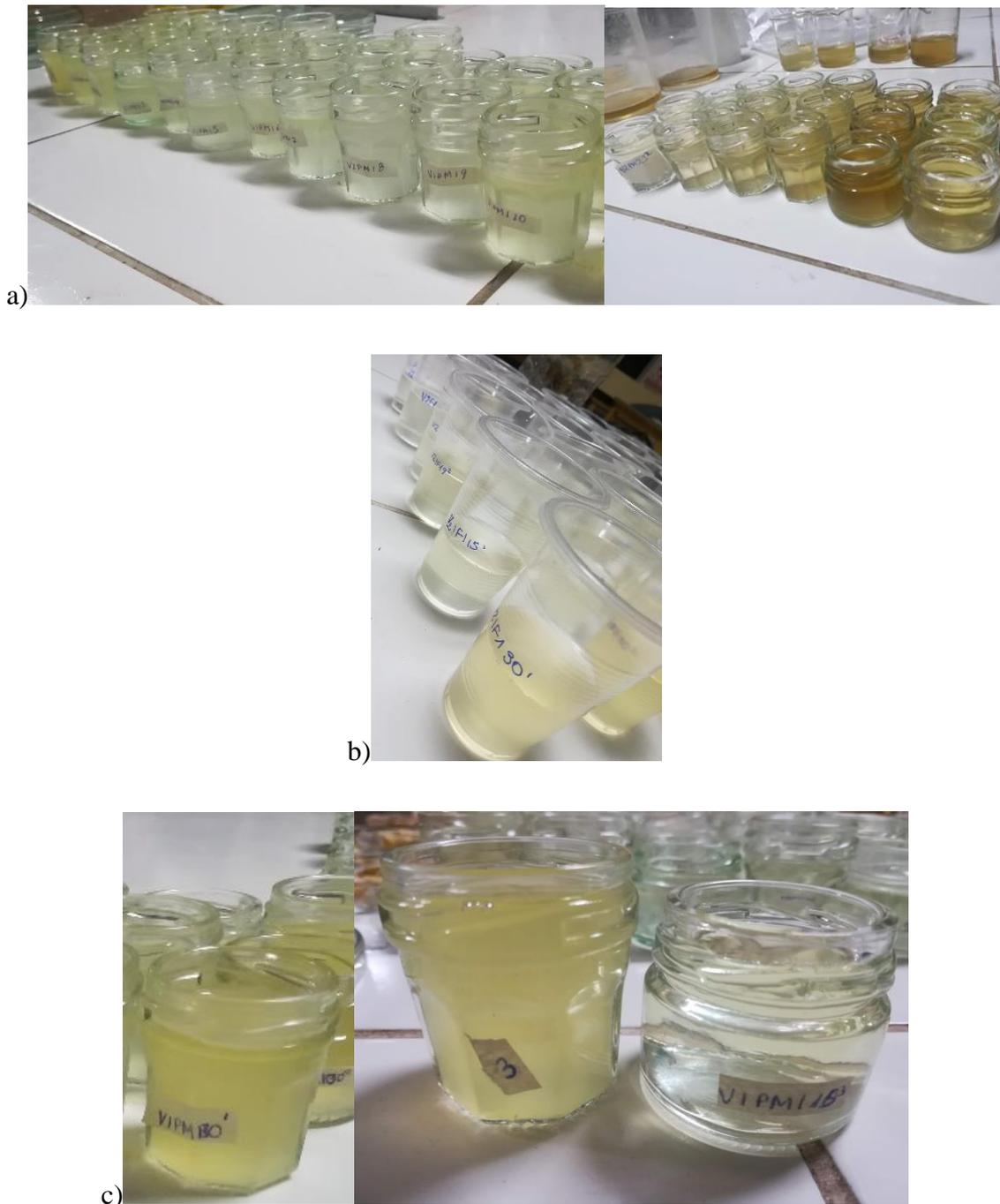


Figura 28: Solvente de los granos de Tarwi desamargados. a) Desamargado del Tarwi por microondas, b) Desamargado con ultrasonidos y c) Tarwi hidratado y congelado.

La aplicación de temperaturas bajo cero luego del hidratado de las muestras, como se muestra en la Tabla 8 el contenido de lupanina desciende hasta 4.2 g/100g en el ecotipo 1. Esta expresión también se puede observar en la Figura 28c, el color diferente del agua usada como soluto para la extracción de alcaloides en muestra del lado izquierdo representa al soluto del Tarwi hidratado y congelado, en el lado derecho se muestra al soluto de primer

tratamiento con microondas al tiempo 15 minutos. Corroborando a sí las hipótesis planteadas de que la aplicación del congelado ayuda a la extracción de alcaloides frente a un hidratado convencional.

Según la Norma Técnica Peruana (NTP 205.090 2018) INACAL (2019), los atributos de color, sabor y olor del grano de Tarwi o chocho desamargado para el consumo humano se determina por evaluación sensorial, de acuerdo con las especificaciones de calidad del producto, establecidas como color característico, olor característico y libre de olores objetables y de sabor característico libre de sabor amargo.

Para la evaluación sensorial, se instruyó a los panelistas seleccionados para evaluar la apariencia y textura de las muestras parcialmente desamargadas por los dos métodos de extracción antes mencionados como se observa en (Figura 47 del Anexo 1), expresaron su juicio en un análisis de prueba de textura como se muestra en la (Tabla 20 Anexo1). Se excluyó el sabor puesto que no se llegó a desamargar por completo al grano, pudiendo afectar a la salud de los catadores, por las altas dosis de alcaloides Quinozílinicos y por la cantidad de muestras que se presentan. Además, cuando el grano tiene una concentración de alcaloides mayor a 0.1% es perceptible sensorialmente (Gutiérrez *et al.*, 2016). Los resultados de la prueba de Textura del Tarwi se realizó a 8 jueces, donde en la encuesta realizada siguiendo el método de Hernandez (2005), de un puntaje que iba desde -3 a +3 de acuerdo a la intensidad de la cualidad que presento la muestra, para realizar las comparaciones en los resultados se tuvieron que hacer un “Ranqueo de Friedman” de las muestras Rodrigues (2012), a la vez estas se tuvieron que escoger a criterio tomando en cuenta los métodos, tiempos y variedades. Puesto que la muestra total aun sin repeticiones son una cantidad considerable donde el juez no podría diferenciar bien obteniendo error en los resultados. Se muestra en la Tabla 21 del Anexo 1, la calificación de los jueces a las cualidades de textura del Tarwi.

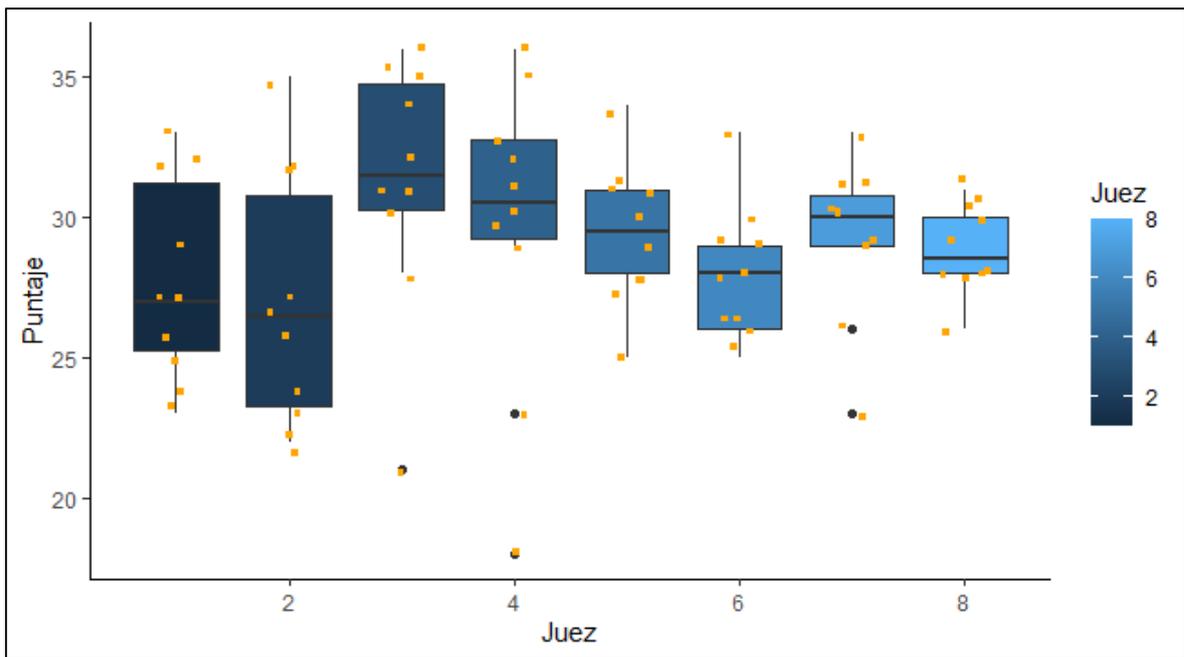


Figura 29: Relación Puntaje Vs Juez.

En la Figura 29, se muestra los puntajes obtenidos de cada juez para evaluar el análisis de varianza de los jueces (descrita en el Anexo 2, Tabla 34), se observa que no existen diferencias significativas entre los jueces siendo el $p > 0.05$, representando así la homogeneidad de su juzgamiento, se realizó la comparación el test de Tukey (descrito en el Anexo 2, Tabla 35) para tener mayor certeza y evaluar entre jueces las diferencias de sus criterios de calificación del perfil de textura del Tarwi.

Con respecto a las cualidades que se evaluaron: mecánicas (dureza y Fracturabilidad); geométricas (lisa, rugosa); grasa; sensación residual (fácil de romper), se describen gráficamente entre las medias de cada cualidad a partir de la calificación que dieron los jueces.

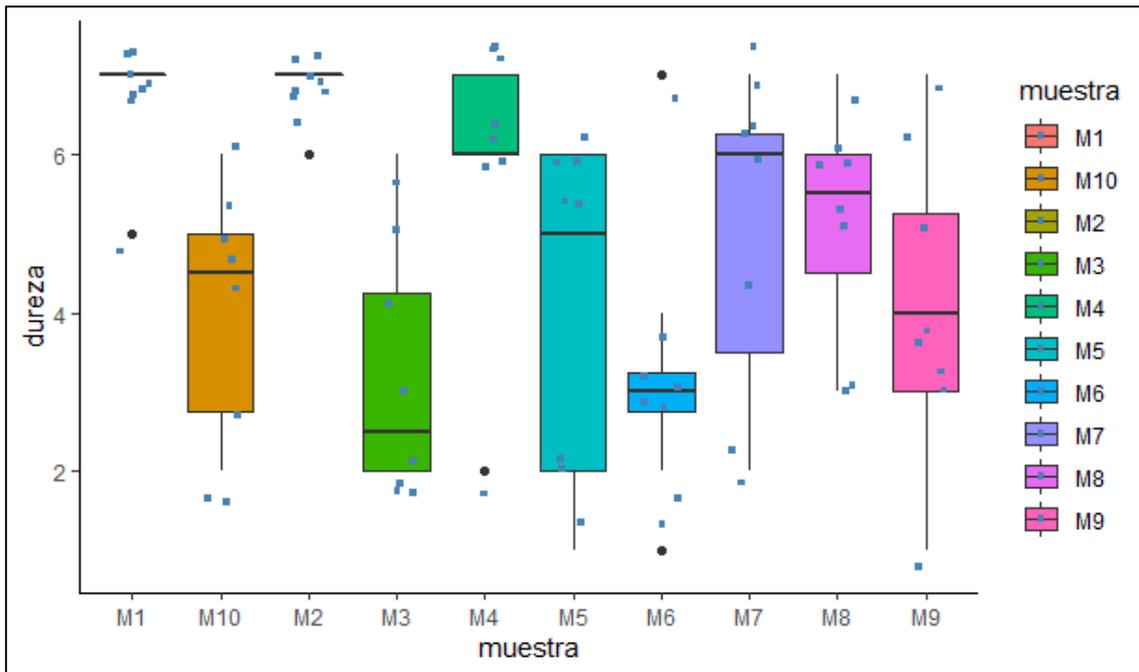


Figura 30: Dureza de las muestras de Tarwi a diferentes tratamientos.

En la Figura 30, la dureza de las muestras de acuerdo al análisis de varianza (descrita en el Anexo 2, Tabla 36), se observa que existen diferencias significativas $p < 0.05$ entre la dureza de las muestras puesto que a las pruebas mecánicas al momento de aplicar fuerza con los dedos generaron resistibilidad. Los tratamientos al que fueron sometidos el Tarwi influyeron en esta comparación de la dureza entre muestras, dependiendo del tiempo y los niveles de potencia suministrada. Se realizó con la prueba de rango múltiple de Duncan (descrito en el Anexo 2, Tabla 37), la muestra 1 y 2 que representan a los granos enteros de cada ecotipo sin tratamiento presentaron mayor dureza, frente a la muestra 3 (VIPM13) suministrada con potencia de microondas genero menos dureza puesto que es el tiempo mínimo durante 3 minutos. Como se observa en la Figura 30, las muestras 4 y 7 que fueron aplicadas con ultrasonidos presentaron mayor dureza que los sometidos al microondas.

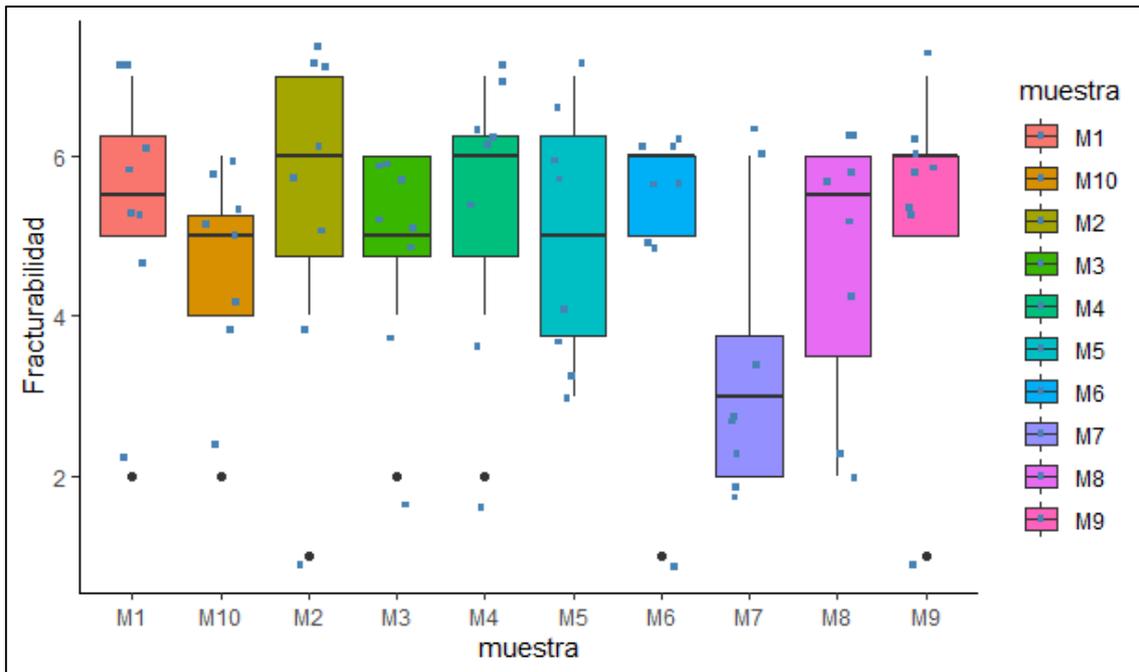


Figura 31: Fracturabilidad de las muestras de Tarwi a diferentes tratamientos.

La fracturabilidad calificada a las muestras de control sin tratamiento es mucho mayor que las extraídas por ambos métodos (Figura 31), debido a las temperaturas y potencias que fueron sometidas dañando las estructuras celulares de las muestras. Como indica Villacrés *et al.* (2020a), que debido a las temperaturas elevadas en el proceso de cocción la primera turgencia es destruida conllevando a una pérdida de crujencia. Respecto al análisis de varianza (descrita en el Anexo 2, Tabla 38), se observa que no existen diferencias significativas $p > 0.05$ entre la Fracturabilidad de las muestras, la cubierta del Tarwi es quien se rompe primero seguido del interior del grano, excepto al de la muestra 7 (V1IF1 30 min) que no fue tan frágil como se demuestra en la comparación entre muestras que se realizó con la prueba de rango múltiple de Duncan (descrito en el Anexo 2, Tabla 39). Debido al tiempo prolongado de ultrasonido al que fue expuesto.

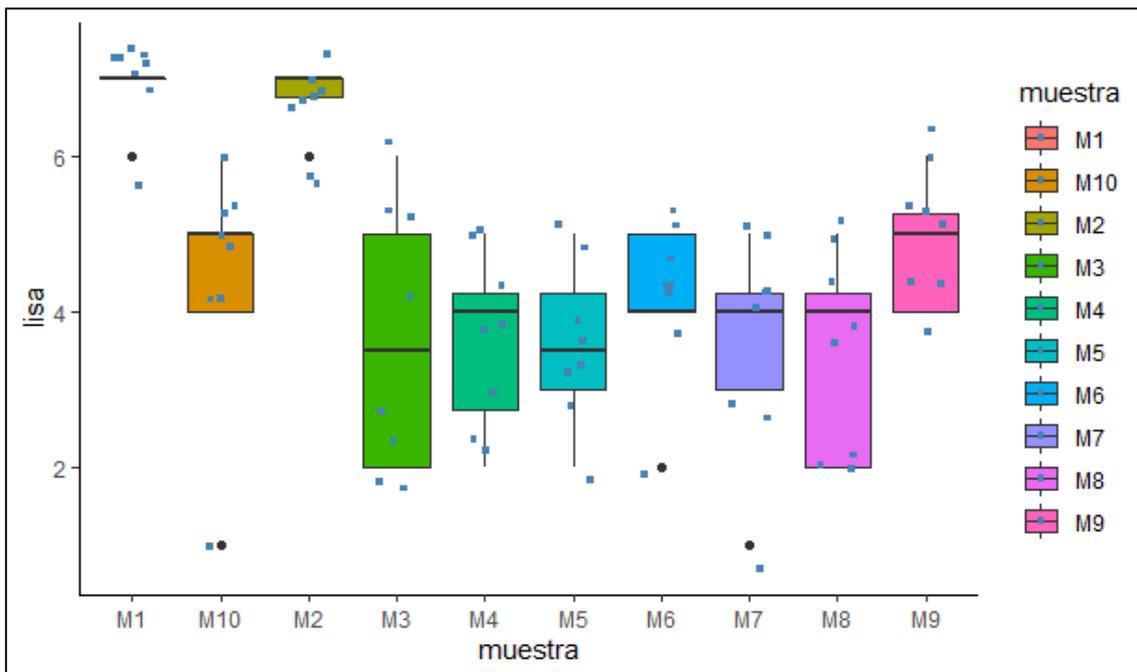


Figura 32: Calidad geométrica-lisa de las muestras de Tarwi a diferentes tratamientos.

En las cualidades geométricas de liso (Figura 32) y rugoso (Figura 33) de las muestras presentaron niveles de significancia $p < 0.05$ (descritas en el Anexo 2, Tabla 40 y 42 respectivamente), dando a inducir que las cualidades físicas externas fueron diferentes entre las muestras debido a los tratamientos suministrados, de acuerdo a la prueba de comparación de rango múltiple Duncan (descrito en el Anexo 2, Tabla 41) las muestras más lisas fueron para los granos enteros sin tratamiento alguno y el resto de las muestras presentaron semejanzas en su estructura geométrica. Para la cualificación rugosa presentaron mayores semejanzas debido a la hidratación y el secado la cual genero algunos abultamientos en la cubierta del grano como se observa en la prueba de rango múltiple de Duncan (descrito en el Anexo 2, Tabla 43).

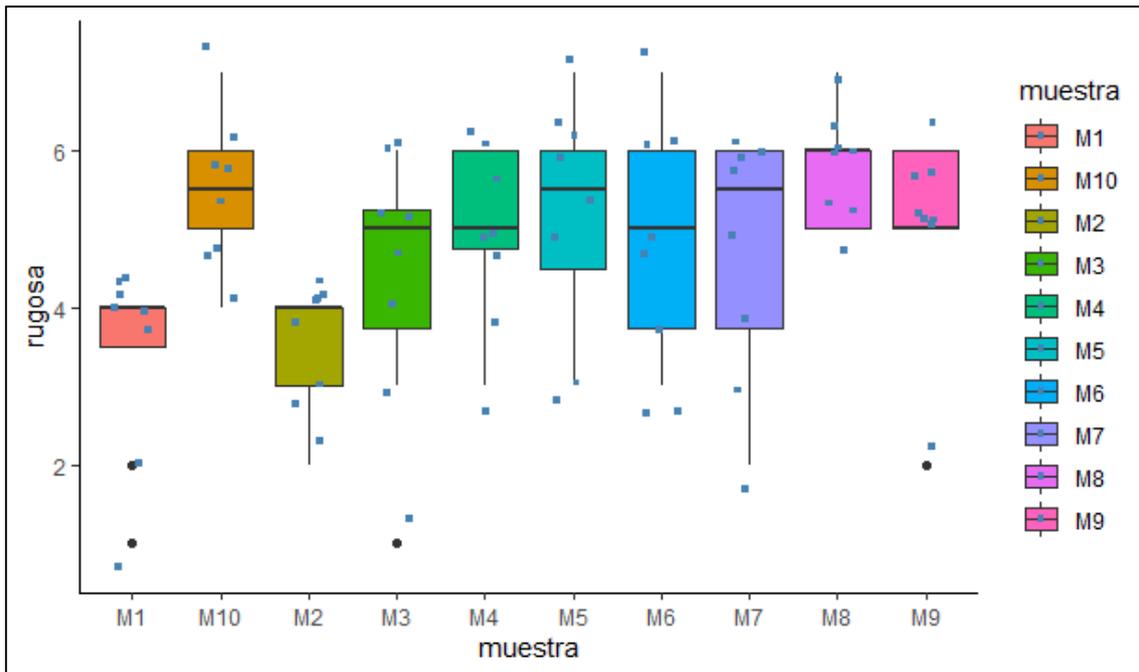


Figura 33: Calidad geométrica-rugosa de las muestras de tarwi a diferentes tratamientos.

El *Lupinus mutabilis*, presenta en su estructura un alto contenido de grasa representando en promedio del 16 – 20 % de su composición según varios autores antes mencionados como Mujica y Jacobsen (2006), y las muestras al no ser desgrasadas antes o después de la extracción de alcaloides, al tacto presenta esa cualidad y en la molienda también se pudo apreciar en una textura pastosa de la grasa presente en todas las muestras (Figura 34), de acuerdo con el análisis sensorial realizado mostrando un nivel de significancia $p > 0.05$ para las 10 muestras (Detallado en el Anexo 2 Tabla 44) y una prueba de rango múltiple de Duncan (descrito en el Anexo 2, Tabla 45), se observa esta homogeneidad en las muestras tratadas con diferencias mínimas en las muestras 1 y 2 que representan a los granos de los dos ecotipos sin tratamiento alguno. Según Quispe Condori (2012) el contenido de grasa después del desamargado del Tarwi varía alrededor del 8 %.

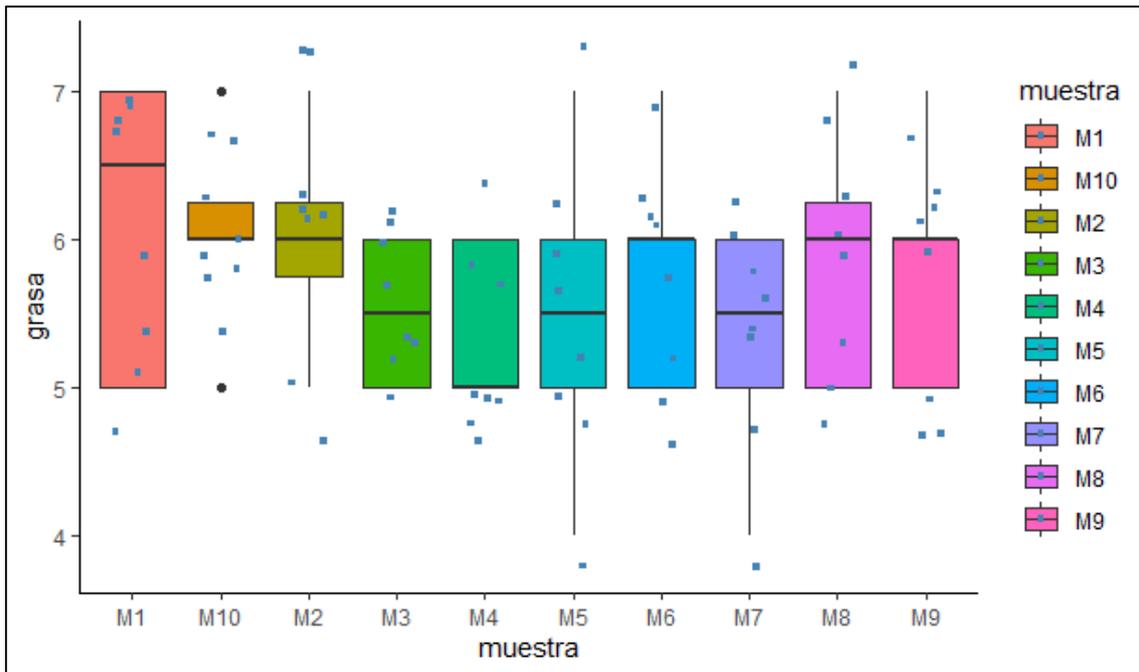


Figura 34: Grasa apreciable de las muestras de Tarwi a diferentes tratamientos.

En las cualidades de sensación residual fácil de romper (Figura 35) de las muestras presentaron un nivel de significancia $p < 0.05$ (descritas en el Anexo 2, Tabla 46), dando a inducir que las cualidades residuales fueron diferentes entre las muestras debido a los tratamientos suministrados, de acuerdo a la prueba de comparación de rango múltiple Duncan (descrito en el Anexo 2, Tabla 47) la muestra que fue más susceptible al romper fue la muestra 9 (V1PM230) suministrada con un nivel de potencia del 50% y un tiempo de 30 min que debilitaron a la muestra la cual genero un fácil rompimiento del grano. En cuanto a las muestras más difíciles de romper se registraron en los granos enteros sin tratamiento alguno como se detalla en la prueba de Duncan y la Figura 35 seguido por las muestras aplicadas con ultrasonidos.

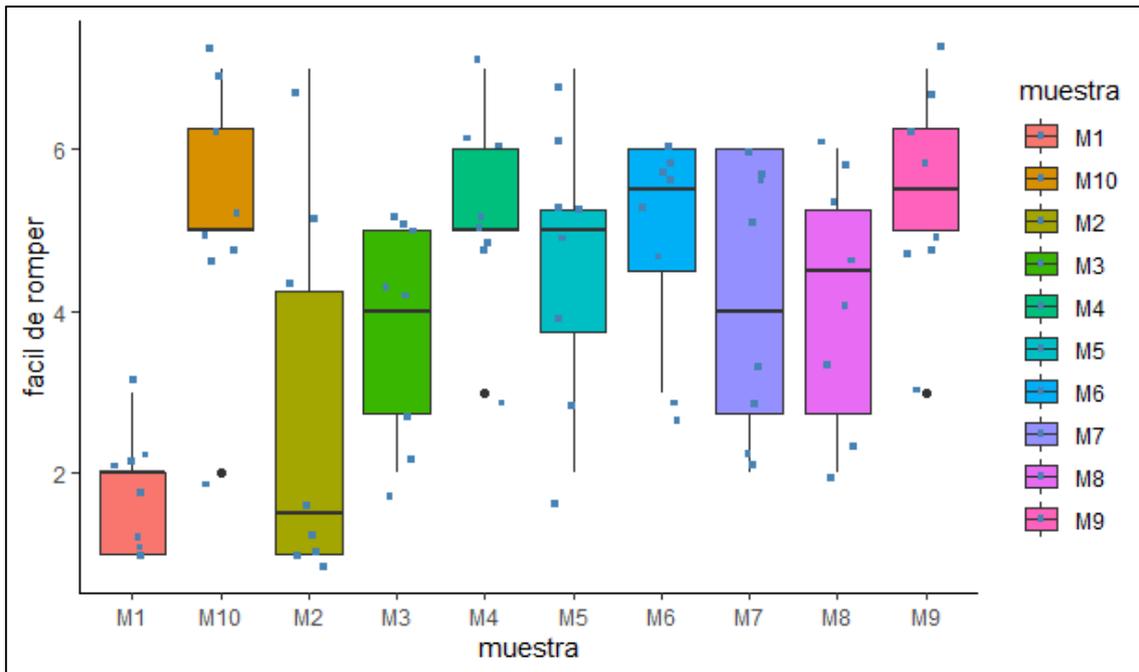


Figura 35: Sensación residual- fácil de romper de las muestras de Tarwi a diferentes tratamientos.

Existiendo a la vez diferencias significativas en cuanto al color y textura del grano específicamente en la estructura interna presentándose mayores diferencias por el desamalgado con microondas respecto a la del ultrasonido al someter a cocción y altas presiones (Figura 45, del Anexo 1). La presencia de la degradación del pigmento a color marrón que presentaron los granos, pueden ser producto de la proteólisis generada por las altas temperaturas del microondas, respecto a las del ultrasonido que se usaron bajas temperaturas y frecuencias mayores a 20 kHz (Chemat *et al.* 2010; Zhong *et al.* 2018).

En la apariencia general las muestras asistidas por ultrasonidos, no presentaron muchos daños aparentes en la cubierta del Tarwi. Mientras que por el método de microondas surgieron más daños y debido a los cambios de coloración del agua que se mostró en la Figura 28 coincidiendo con Miano *et al.* (2015), que la cubierta es la causa principal de la cinética de la hidratación, por lo que afecto en los aspectos sensoriales de textura del Tarwi.

4.5. ANÁLISIS CUANTITATIVO

La curva de calibración para la lupanina se encontró en UV vis 1 de 205 nm, con volumen e inyección de 3 µl en un tiempo de retención de 4 min de la muestra y la ubicación de la lupanina en 1.65 min (Figura 36 y Tabla 14). la calibración del estándar se registró con *R square* de 0.9885 como se ve en la Figura 37, también se puede observar en la (Figura 57 del Anexo 1) la calibración registrada por el UHPLC.

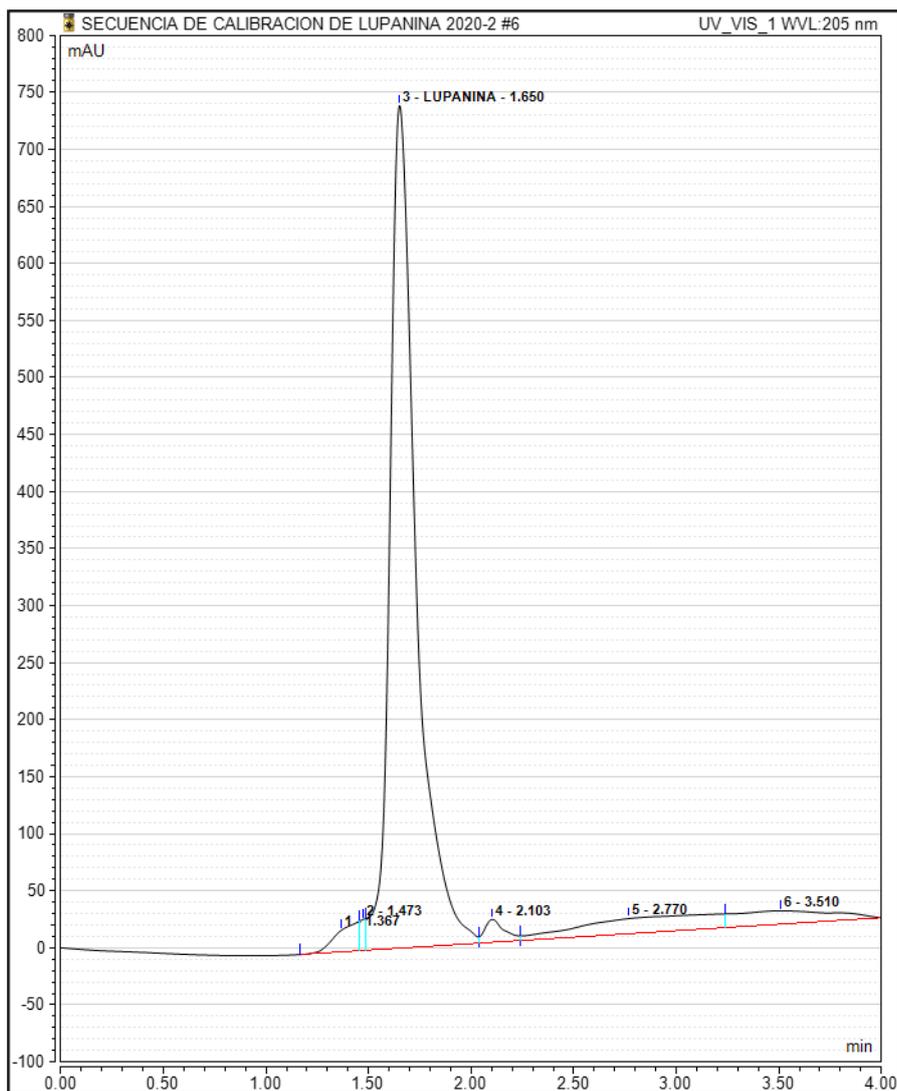


Figura 36: Secuencia y ubicación de lupanina en el cromatograma.

Tabla 14: Datos de calibración de la lupanina.

| No. | Injection Name | Ret.Time | Area | Height | Amount | Rel.Area | Peak Type |
|-----|-----------------|----------|----------|----------|----------|----------|-----------|
| | | min | mAU*min | mAU | | % | |
| | | UV_VIS_1 | UV_VIS_1 | UV_VIS_1 | UV_VIS_1 | UV_VIS_1 | UV_VIS_1 |
| | | LUPANINA | LUPANINA | LUPANINA | LUPANINA | LUPANINA | LUPANINA |
| 2 | LUPANINA200PPM | 1.663 | 41.661 | 207.355 | 191.220 | 68.40 | M |
| 3 | LUPANINA400PPM | 1.640 | 62.237 | 386.433 | 433.413 | 100.00 | BMB |
| 4 | LUPANINA600PPM | 1.633 | 72.257 | 476.628 | 551.349 | 79.41 | M |
| 5 | LUPANINA800PPM | 1.640 | 96.117 | 641.683 | 832.180 | 85.24 | M |
| 6 | LUPANINA1000PPM | 1.650 | 109.681 | 738.949 | 991.837 | 82.39 | M |

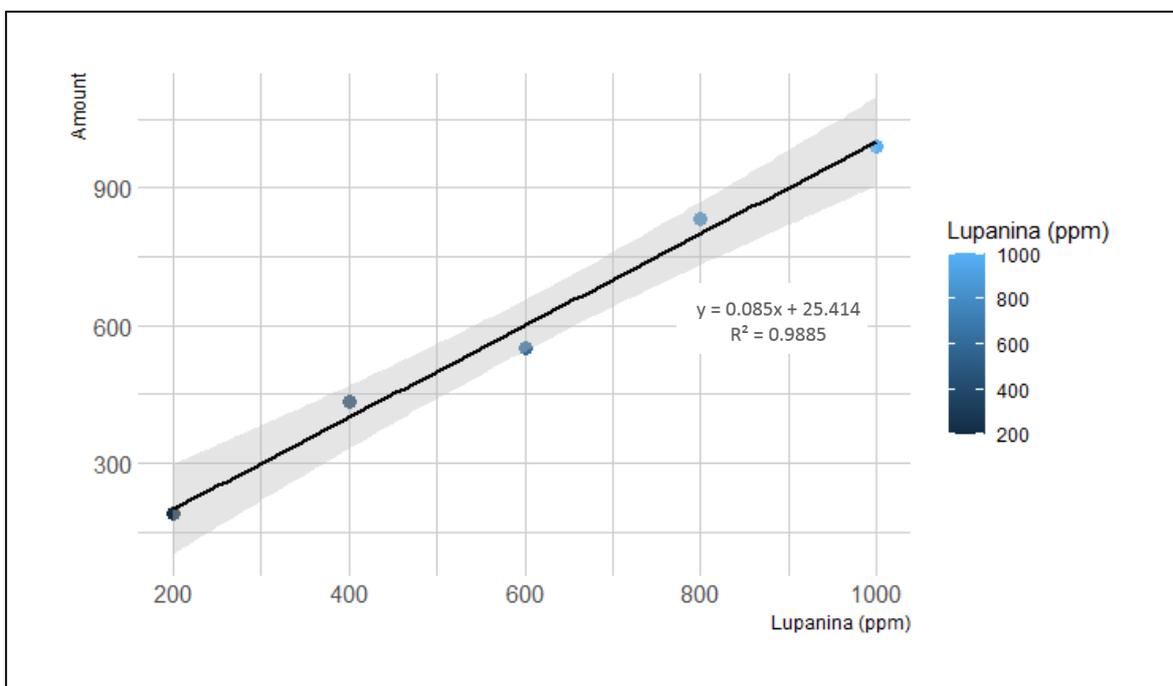


Figura 37: R- square de la lupanina.

Luego de haberse preparado las muestras para su concentración de alcaloides. Los alcaloides eluidos por diclorometano fueron disueltos en 4 ml de metanol y luego ser filtrados por un filtro de membrana de 0.2 µm de porosidad separando así compuestos solidos que puedan dañar a la columna en este caso el C18 del UHPLC como se observa en la (Figura 50 y 51 del Anexo 1).

4.5.1. LUPANINA EXTRAÍDA CON MICROONDAS Y ULTRASONIDO

En la Tabla 15 y 16, se muestran los resultados de la cuantificación de lupanina en g/100g de muestra. Donde los resultados obtenidos de la muestra sin tratamiento son semejantes a los obtenidos por Cortés-Avenidaño *et al.* (2020), de *L. mutabilis* donde cuantifico por cromatografía de gases. Y Jiménez-Martínez *et al.* (2007), cuantifico alcaloides Quinolizidínicos para el *L. mutabilis* sin tratamiento, obteniendo en mayor concentración a la lupanina con 0.498 mg/kg seguido de la esparteína con 0.151 mg/kg obteniendo una concentración total de alcaloides Quinolizidínicos 0.792 mg/kg. En la (Figura 52 del Anexo 1), se muestra alguno de los cromatogramas registrados por el UHPLC de las muestras extraídas con microondas y ultrasonido.

Tabla 15: Cuantificación de lupanina en g(lup)/100g(Tarwi) por microondas.

| Corrida | Nivel de Potencia | Potencia (W) | Código de Tratamiento | Tiempo (min) | g(lup)/100g(Tarwi) (±) |
|---------|-------------------|--------------|-----------------------|--------------|------------------------|
| 0 | | 0 | V1PM0 | 0 | 4.200 |
| 1 | 30% | 270 | V1PM13 | 3 | 4.183 |
| 2 | | 270 | V1PM15 | 5 | 3.898 |
| 3 | | 270 | V1PM17 | 7 | 3.458 |
| 4 | | 270 | V1PM19 | 9 | 2.583 |
| 5 | | 270 | V2PM115 | 15 | 3.185 |
| 6 | | 270 | V1PM130 | 30 | 2.859 |
| 7 | 50% | 450 | V1PM23 | 3 | 3.872 |
| 8 | | 450 | V1PM25 | 5 | 2.882 |
| 9 | | 450 | V1PM27 | 7 | 2.342 |
| 10 | | 450 | V1PM29 | 9 | 1.780 |
| 11 | | 450 | V1PM215 | 15 | 1.580 |
| 12 | | 450 | V1PM230 | 30 | 2.048 |
| 13 | 70% | 630 | V1PM33 | 3 | 1.920 |
| 14 | | 630 | V1PM35 | 5 | 1.791 |
| 15 | | 630 | V1PM37 | 7 | 1.598 |
| 16 | | 630 | V1PM39 | 9 | 1.482 |

«continuación»

| | | | | |
|----|-----|---------|----|-------|
| 17 | 630 | V1PM315 | 15 | 1.705 |
| 18 | 630 | V1PM330 | 30 | 1.868 |

Tabla 16: Cuantificación de lupanina en g(lup)/100g(Tarwi) por ultrasonido.

| Corrida | Código de Tratamiento | Frecuencia (kHz) | Potencia(W) | Tiempo (min) | g(lup)/100g(Tarwi) (±) |
|---------|-----------------------|------------------|-------------|--------------|------------------------|
| 0 | V1IF0 | 0 | 0 | 0 | 4.200 |
| 1 | V1IF13 | 40 | 100 | 3 | 3.797 |
| 2 | V1IF15 | 40 | 100 | 5 | 4.175 |
| 3 | V1IF17 | 40 | 100 | 7 | 3.165 |
| 4 | V1IF19 | 40 | 100 | 9 | 2.953 |
| 5 | V1IF115 | 40 | 100 | 15 | 2.443 |
| 6 | V1IF130 | 40 | 100 | 30 | 2.655 |
| 7 | V1IF23 | 40 | 27 | 3 | 1.903 |
| 8 | V1IF25 | 40 | 27 | 5 | 1.828 |
| 9 | V1IF27 | 40 | 27 | 7 | 2.104 |
| 10 | V1IF29 | 40 | 27 | 9 | 2.066 |
| 11 | V1IF215 | 40 | 27 | 15 | 2.629 |
| 12 | V1IF230 | 40 | 27 | 30 | 2.227 |
| 13 | V1IF33 | 28 | 100 | 3 | 3.504 |
| 14 | V1IF35 | 28 | 100 | 5 | 3.151 |
| 15 | V1IF37 | 28 | 100 | 7 | 3.271 |
| 16 | V1IF39 | 28 | 100 | 9 | 2.711 |
| 17 | V1IF315 | 28 | 100 | 15 | 1.771 |
| 18 | V1IF330 | 28 | 100 | 30 | 2.589 |
| 19 | V1M12 | ST | 0 | 0 | 4.980 |
| 20 | V2M12 | ST | 0 | 0 | 5.160 |
| 21 | V2PM01 | CG | 0 | 0 | 4.370 |
| 22 | V1PM01 | CG | 0 | 0 | 4.200 |
| 23 | V2IF1152 | 40 | 100 | 15 | 1.690 |
| 24 | V2IF2151 | 40 | 27 | 15 | 3.416 |

ST: Sin tratamiento.

CG: Muestra congelada.

Es probable que Debido a que no se hicieron los cambios de agua en ninguna parte del proceso de desamargado el nivel de saturación del agua con alcaloides no permitió la difusión continua. Como se muestra en los resultados de la Tabla 15 y 16, a los tiempos superiores de 15 min la difusión de los alcaloides disminuye en ambos métodos de extracción.

El proceso de congelación al que fue sometido luego del hidratado estructuralmente según Badui-Dergal (2006), las membranas celulares del alimento con el líquido retenido congelado son dependientes a los cambios de temperatura ya mencionados ocasionando que puedan eliminar algunos de sus componentes en el agua de descongelamiento. Por lo que en nuestros resultados los métodos de extracción usados aumentan la temperatura durante el proceso, con llevando a que se rompa esta membrana celular permitiendo la salida del alcaloide. Considerando a la vez que la velocidad de congelamiento fue lenta lo cual genera un tamaño de cristal más grande y dañino afectando a la membrana celular.

Desgrouas *et al.* (2014) uso microondas y ultrasonido para la extracción de alcaloides bioactivos cefarantina de *Stephania rotunda*, aumentando 2.4 veces la extracción, permitiendo una reducción de tiempos con solventes. Siendo la más optima la extracción por microondas que las de ultrasonido. En nuestros resultados también se presentaron mayores rangos de extracción con microondas respecto al ultrasonido.

Según la NTP 205.090 el contenido de alcaloides totales en base seca que debe presentar el Tarwi desamargado es de 0.02-0.07 %, En la extracción realiza por estos métodos no se llegó a estas concentraciones debido al tiempo que fue sometido no superó los 30 min.

Sanca (2016), reporta valores de 0.2 a 4.5 % de alcaloides totales en la semilla entera de *L. mutabilis*, y luego de haber sometido al desamargado de las diez variedades utilizadas indica que, los valores redujeron en un rango de 0.04 a 0.15 %, que a la vez menciona que no se encontró diferencias significativas entre alguno de los genotipos desamargados y Cortés-Avenidaño *et al.* (2020), realizó la cuantificación de diez ecotipos de Tarwi del Perú donde también se presenta estas diferencias de concentración de alcaloides siendo las del centro con mayor porcentaje respecto a las zonas sur del Perú llegando hasta el 6 % de alcaloides totales. Estas diferencias se reflejan a altitudes de cosecha, composición del suelo, subespecies o ecotipos estudiados, variabilidad genética, factores agronómicos e influencias ambientales y de los métodos analíticos (Carvajal-Larenas *et al.*, 2016). En los ecotipos estudiados en este trabajo el ecotipo de Yunguyo (V1) presento menor cantidad de alcaloides que el ecotipo de Seccelambra (V2) con (4.980 y 5.160 g/100g de Tarwi) respectivamente (Tabla 15). Como se muestra en el estudio realizado por Cortés-Avenidaño *et al.* (2020), estas diferencias de altitudes influenciaron como el ecotipo Cusco a una altitud de 3399 msnm que presenta mayor cantidad de alcaloides frente a las de Yunguyo (Puno) 3827 msnm.

Debido a la extensión del proyecto con dos ecotipos de Tarwi, y la limitación de recursos económicos, con las que se contó se tomó la decisión de la cuantificación por UHPLC solo de un ecotipo (Yunguyo) mientras que el otro ecotipo se cuantificaron solo algunas muestras tomando criterio del tipo de tratamiento y el método usado, para realizar las comparaciones respectivas. En la Tabla 17, se presentan los resultados obtenido por el UHPLC de la cantidad de lupanina en la muestra por ecotipo y como se describieron anteriormente en la difusividad efectiva determinada para cada método y ecotipo, la muestra V1M12 (Yunguyo) y V2M12 (Seccelambra) que representa a los granos sin tratamiento alguno presentaron mayores valores de concentración para lupanina.

Tabla 17: Cuantificación de lupanina por ecotipo 1 (Yunguyo), ecotipo 2 (Seccelambra) y método de extracción.

| Ecotipo | Código de Tratamiento | Método de extracción | Potencia suministrada | Tiempo (min) | g(lup)/100g(Tarwi) |
|----------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|---------------------|---------------------------|
| Yunguyo | V1M12 | ST | 0 | 0 | 4.980 |
| Seccelambra | V2M12 | ST | 0 | 0 | 5.160 |
| Yunguyo | V1PM0 | CG | 0 | 1 | 4.200 |
| Yunguyo | V1 PM1 | EAM | 270 W | 15 | 2.859 |
| Yunguyo | V1IF115 | EAU | 40 kHz:100W | 15 | 2.443 |
| Yunguyo | V1IF215 | EAU | 40kHz:27W | 15 | 2.629 |
| Seccelambra | V2PM0 | CG | 0 | 1 | 4.370 |
| Seccelambra | V2PM115 | EAM | 270 W | 15 | 3.185 |
| Seccelambra | V2IF1152 | EAU | 40kHz:100W | 15 | 1.689 |
| Seccelambra | V2IF2151 | EAU | 28kHz:27W | 15 | 3.416 |

ST: Sin tratamiento.

CG: Muestra congelada.

EAM: Extracción asistida con microondas.

EAU: Extracción asistida con ultrasonido.

Esta comparación de medias de los ecotipos se presenta en la Figura 38a, seguida por el diagrama de barras de la concentración de lupanina (Figura 38b) entre ecotipos donde se puede observar claramente las diferencias entre ellos donde la muestra del ecotipo 2 al ser asistida con ultrasonido con una intensidad de frecuencia de 40 kHz a 100 W durante 15 minutos (V2IF115), presenta mayor contenido de extracción de lupanina de la muestra respecto al ecotipo 1. Y sucede inversamente en los tratamientos con una intensidad de Frecuencia de 40 kHz a 27 W durante 15 minutos, el ecotipo 1 (Yunguyo) presenta mayor rango de extracción de lupanina frente al ecotipo 2 (Seccelambra). Estas diferencias pueden darse debido a la estructura del Tarwi puesto que por ecotipo presentan ciertas diferencias tanto en la cubierta del *Lupinus* como la porosidad que pueden presentar, frente a la interacción con ondas de sonido que producen la cavitación dentro de la muestra. En cuanto a la extracción con microondas en el ecotipo 1 presenta mayor rango de extracción de lupanina frente al ecotipo 2.

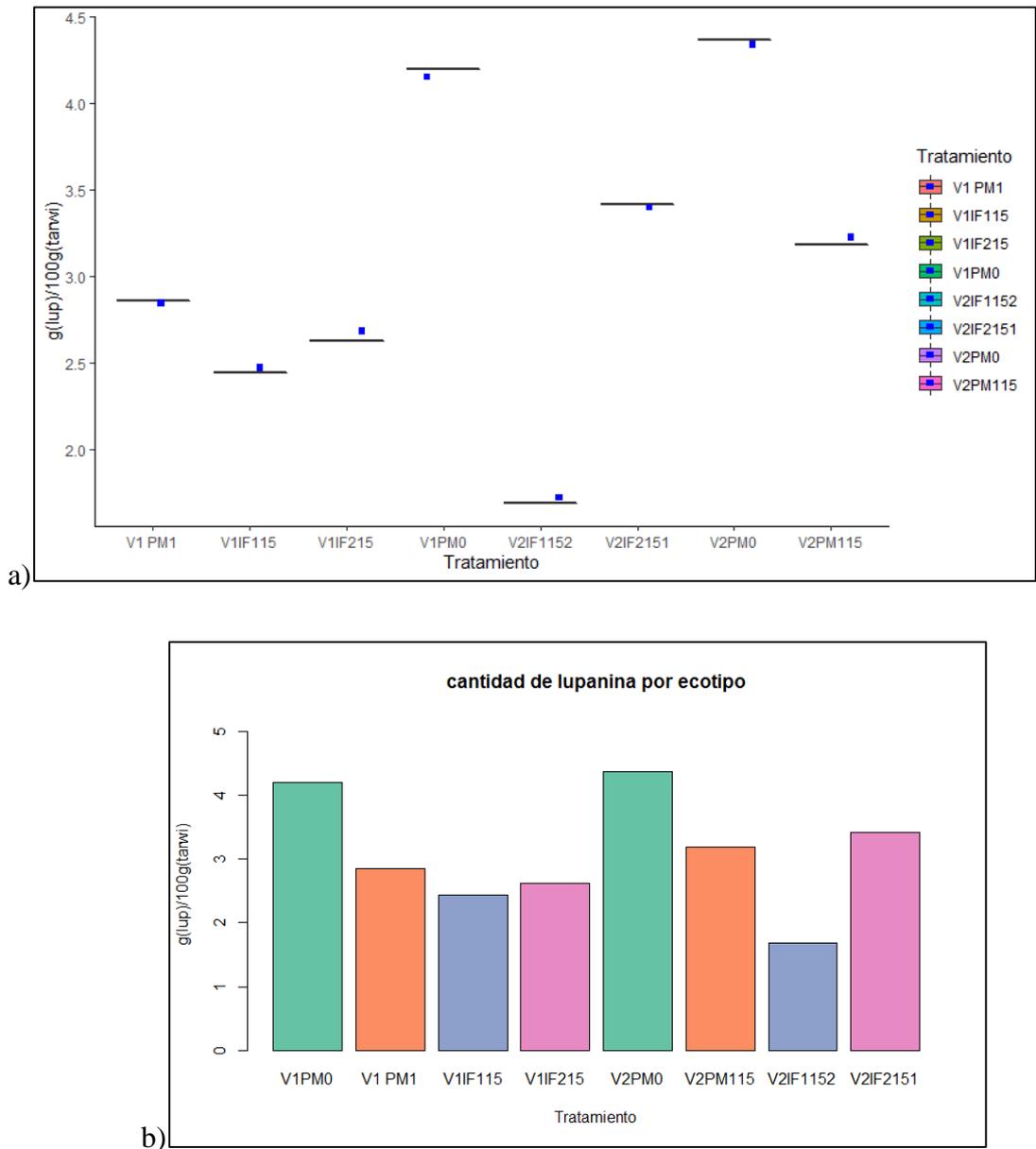


Figura 38: Relación de la lupanina extraída frente a las variedades y ecotipos. a) Comparación de medias entre ecotipos, b) Diagrama de barras del contenido de lupanina entre ecotipos.

De acuerdo al análisis de varianza (descrita en el Anexo 1, Tabla 30b) se observa que no existen evidencias significativas de varianza entre tratamientos y variedades obteniendo un p-value mayor al 0.05, debido a que el rango de las concentraciones de lupanina son valores pequeños. En la comparación de medias de Tukey, se puede observar mejor las diferencias existentes entre los ecotipos y los tratamientos realizados y poder extraer la lupanina del Tarwi. Respecto a los diferentes métodos de extracción por ecotipo la etapa de congelado

adicionado después del hidratado influyo significativamente en la extracción de lupanina reduciendo alrededor de un 15 %, frente a un hidratado convencional. Según Carvajal-Larenas *et al.* (2014), la reducción de alcaloides con una metodología tradicional durante el remojo o hidratación fue del 5.6 %.

Una extracción combinada de ultrasonidos y microondas (EAUM) genera mayores beneficios en cuanto a tiempo, y solventes en la extracción de componentes bioactivos a partir de compuestos vegetales conocidos también como tecnologías verdes (Plazzotta *et al.* 2019; Chen, Dong, Wei, Hu, & Long 2020). Este último logro reducir el proceso de extracción de aceites del café en 10 min respecto a las 5 h del proceso convencional con la aplicación de ambas metodologías. Cabe rescatar que también es posible usar uno de ellos como pretratamiento como uso G. S. da Rosa, Vanga, Garipey, & Raghavan (2019), la EAM como pre tratamiento para el EAU para mejorar los procesos de extracción..

De esta forma Chhavarath *et al.* (2017), también menciona que una mayor cantidad de solución en una extracción asistida por ultrasonidos (EAU) genera una deficiencia en el colapso de las burbujas, y una menor cantidad de solución en la extracción asistida por microondas (EAM) provoca una disminución en la absorción de microondas y capacidad endotérmica para la extracción de componentes como los alcaloides, la cual se refleja en nuestros resultados.

Para procesos de extracción a escala industrial por microondas y ultrasonidos, la tecnología ha permitido que ya se puedan trabajar en flujo continuo como lo describe Chemat *et al.* (2017), para el uso de microondas se puede realizar usando cámaras y túneles como las: Hidrodestilación de microondas sin solvente (SFME) e Hidrodifusión y gravedad por microondas (MHG) ayuda a reducir los costos con calentamiento más efectivos, calentamiento más rápidos de alimentos envasados, equipos de tamaño reducido, respuesta más rápida al control del proceso, arranque más rápido, aumento de la producción y eliminación de los pasos del proceso.

Para los ultrasonidos se han desarrollado equipos de sono-extracción como REUS (www.etsreus.com) con capacidad de hasta 1000 L, a través de un sonótrodo conectado a la chaqueta permitiendo que el ultrasonido llegue con presión a través del agua dentro de la chaqueta a la muestra con una agitación y flujo continuo con bombas de la muestra. Y de

más empresas como: (<https://bandelin.com/>, <http://www.advancedsonics.com/>, <https://www.mpi-ultrasonics.com/> entre otros) (Vinatoru *et al.*, 2017). A la vez considerándose como una de las técnicas más convenientes respecto a la de microondas y la convencional en cuanto al efecto del medio ambiente, requiriendo menores tiempos y temperaturas (Chhavarath *et al.*, 2017).

4.5.2. DESAMARGADO CONVENCIONAL

La humedad inicial del Tarwi entera fue de 12.7 %, luego del remojo por un tiempo de 6 horas a 8 horas la humedad ascendió a 49.72 % para (Gutiérrez *et al.*, 2006). En la presente investigación las muestras luego de ser hidratadas por 18 h y congeladas presentaron una humedad del 67.90 % siendo mayor respecto a la registrada por el mencionado autor.

Se realizaron varias investigaciones en cuanto a las extracciones de alcaloides por un método convencional y con algunas modificaciones para mejorar los resultados en la Tabla 18. Se reportan algunos de estos autores donde se aprecia la cantidad de alcaloide extraído representado por la lupanina siendo este el de mayor porcentaje de los alcaloides totales, en tiempos que van desde 2910 min hasta más de 7200 minutos estos datos considerados después del tiempo de hidratado hasta los 8208 min.

Tabla 18: Desamargado convencional por diversos autores.

| Código de Tratamiento | g(lup)/100g(Tarwi) | Tiempo de extracción (min) | Fuente |
|------------------------------|---------------------------|-----------------------------------|--|
| V1 M1 | 5.231 | 0 | (Cortés-Avendaño <i>et al.</i> 2020; S. E. Jacobsen & Mujica 2006) |
| V1 MT 1 | 0.001 | 7260 | |
| V2M1 | 4.771 | 0 | (Gutiérrez <i>et al.</i> , 2016) |
| V2MT 1 | 0.002 | 7260 | |
| V1 M2 | 4.200 | 0 | (Villacrés, 2020a) |
| V1 MT 2 | 0.0058 | 2910 | |
| Vd M3 | 3.980 | 0 | (Villacrés, 2020a) |
| Vd MT 3 | 0.722 | 4440 | |
| Vd MT 4 | 0.538 | 3000 | |

«continuación»

| | | | |
|----------------|-------|------|------------------|
| V1 M5 | 3.600 | 0 | |
| v1 MT 1 | 0.200 | 8208 | (Carvajal, 2014) |

Estos resultados del desamargado por el método convencional, la cuantificación de alcaloides se dan por varios métodos desde métodos por titulación como indica Von-Baer *et al.*, (1979), espectrofotometría UV 410 por Sanca (2016), hasta determinaciones con cromatografía de gases logrando determinar todos los alcaloides Quinolizidínicos presentes en el *L. mutabilis* (Cortés-Avendaño *et al.*, 2020). Estos dos últimos autores mencionados, demuestran que existen diferencias significativas hasta de un 1.31 % de la concentración de alcaloides de la misma muestra, puestos en los resultados de mayor espectro los resultados son más exactos y muestran datos mayores, como los obtenidos en la presente investigación.

En busca de mejorar los procesos de desamargado del *L. mutabilis* ya sea con cambios de agua, con incorporación de soluciones acidas, básicas o de fermentación permiten reducir el tiempo de extracción de los alcaloides, pero estos a la vez se generan nuevos residuos y en algunos casos tóxicos, como se describe en la Tabla 3, de los diferentes procesos de desamargado. Sin dejar de mencionar que durante el hidratado también se realizan estudios para lograr disminuir este tiempo con soluciones como ácido lácticos, NaCl y ultrasonidos que también ayudan a reducir el contenido de alcaloides (Alberto C. Miano *et al.* 2019; Cristian Jiménez-Martínez *et al.* 2007; Villacrés *et al.* 2020).

4.5.3. ALCALOIDES EXTRAÍDOS POR MÉTODOS

Para mejorar la cinética de extracción de alcaloides del *lupinus* por el método convencional, la cocción no debe superar tiempos mayores a 60 min puesto que reduce la salida de los alcaloides según Gutiérrez *et al.* (2016), y los cambios de agua luego de la cocción ayudan a la difusividad del alcaloide con tres cambios de agua durante 22 h (Carvajal-Larenas *et al.*, 2013).

En la Tabla 19, se muestra el resumen del contenido de alcaloides extraído por ultrasonidos, microondas y la convencional (considerando los datos de Cortés-Avendaño *et al.* (2020)), de acuerdo al analisis de varianza muestra que las diferencias son significativas con un p-value < 0.05 (detallado en el Anexo 2, Tabla 33a) entre los tiempos, como la difusividad efectiva determinada entre las metodos de extracción de alcaloides para las muestras

congeladas con ultrasonido y microondas respecto al método convencional realizando una prueba de Tukey para las comparaciones (detallado en el Anexo 2 Tabla 33b). Donde la cinética de extracción asistida por microondas presenta mejores resultados $8.12 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$, seguido por la extracción asistida con ultrasonidos de $2.094 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ y por la convencional $0.00693 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ este último determinada por 7260 min que es el tiempo de desamargado luego de la hidratación. Pudiendo mejorar estos resultados con los cambios de agua y mayores tiempos de acuerdo al proceso.

Tabla 19. Comparación de métodos para la extracción de alcaloides por ultrasonidos, microondas y convencional.

| DESCRIPCIÓN | Método de extracción | | |
|--|----------------------|-----------------|--------------|
| | EAU | EAM | CONVENCIONAL |
| Tratamiento | 1 | 2 | 3 |
| Máx. Lupanina extraída (g/100g) | 1.771 | 1.482 | 0.001 |
| Tiempo de extracción (min) | 15 | 9 | 7260 |
| Mejor potencia suministrada | 40 kHz/27W | 630W - 31.2 W/g | 0 |
| Difusividad efectiva $\times 10^{-9}(\text{m}^2/\text{s})$ por tratamiento | 2.094 | 8.12 | 0.00693* |

*se calculó para 7260 min.

EAU: Extracción asistida por ultrasonido.

EAM: Extracción asistida por microondas.

En los porcentajes de extracción de lupanina del Tarwi, con el método de microondas se llegó a extraer la lupanina hasta un 70.24 % y con ultrasonidos hasta un 64.4 % de lupanina del

Tarwi, considerando los procesos de hidratación y congelación que influyen en la extracción de los alcaloides.

Según Carvajal-Larenas *et al.* (2014), la reducción de alcaloides con una metodología tradicional durante el remojo o hidratación fue de 0.2 % por 8-18 h, cocción 1.1 % por 0.2-1 h y lavado con 4.5 a 6 días de 2.1 % de alcaloides totales es así que en la hidratación se redujo 5.6 % cocción 30.7 % y lavado 58.6 % del total en 5.7 días. Siendo estos tiempos demasiado largos para lograr el desamargado, conllevando a un consumo de agua elevado. Para Alberto C. Miano *et al.* (2019), durante la hidratación convencional el contenido de alcaloides redujo hasta 45 % de $3,46 \pm 0,16$ % d.b. hasta $1,91 \pm 0,08$ % d.b, mientras la hidratación por ultrasonidos redujo hasta 1.51 ± 0.09 % d.b en 8 h.

Usando la predicción planteada anteriormente con la difusividad efectiva de la (Ecuación 4), para los tiempos de extracción hasta lograr un contenido de alcaloides de 0.02% con microondas y ultrasonidos obtendríamos los siguientes resultados frente al método convencional considerando los datos de Cortés-Avenidaño *et al.* (2020), mostrados en la Figura 39a y 39b. Observándose las grandes diferencias en el tiempo de desamargado que genera estas tecnologías verdes, que van hasta 30-100 veces menos tiempo de extracción total de alcaloides que la convencional, en 62.51 minutos para la EAM y 242.44 minutos para la EAU y los 7260 minutos para la extracción convencional. Estos resultados son de tiempos aparentes puesto a los diversos factores que pueden alterar estos resultados como el agua adicionada los cambios de temperatura entre otros factores.

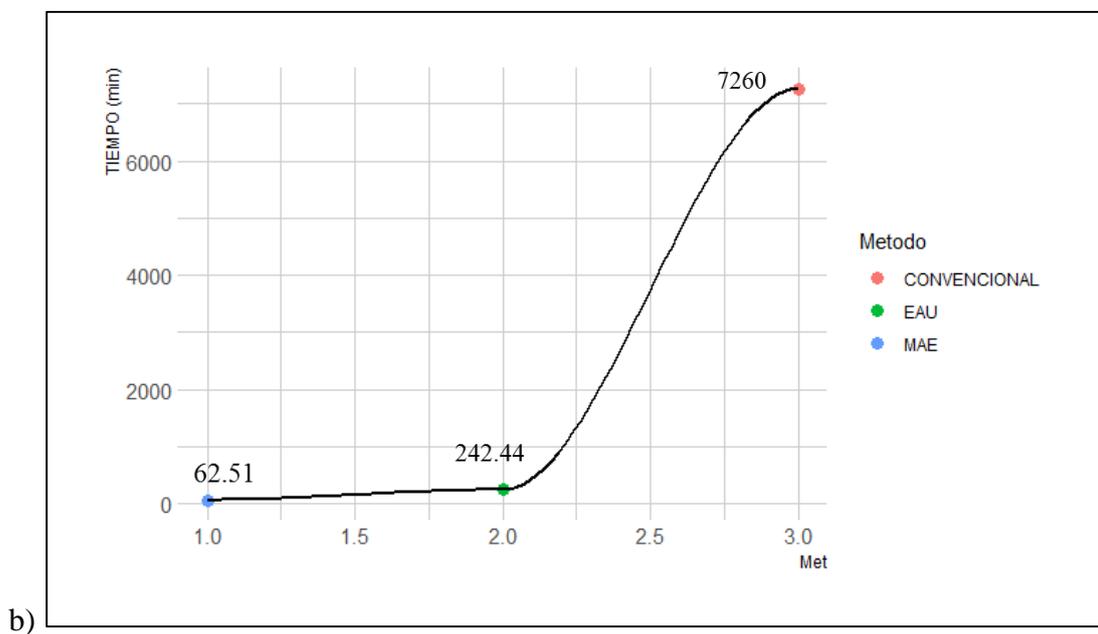
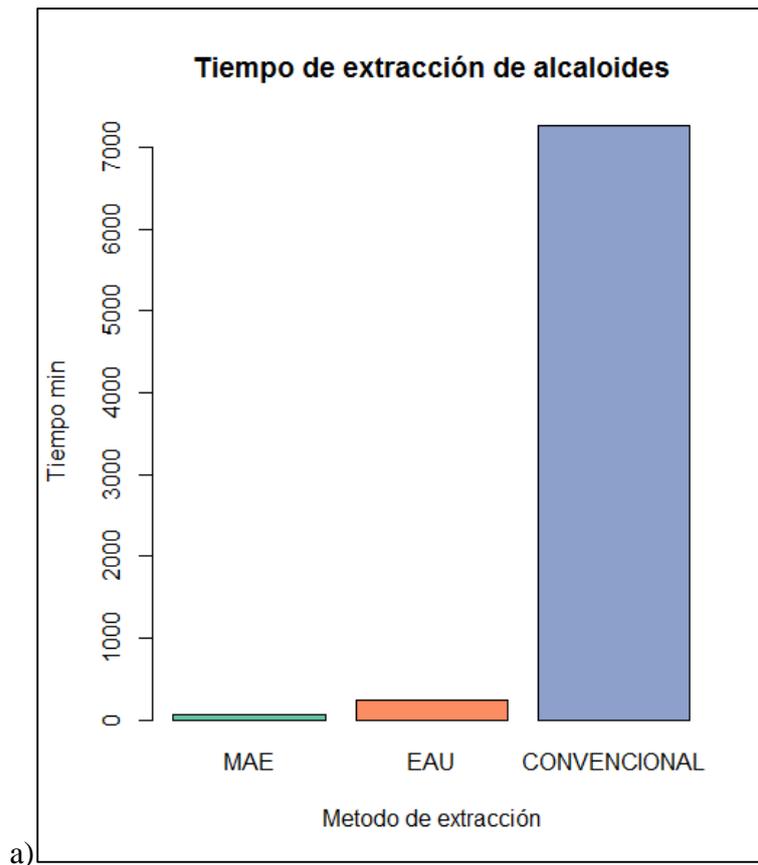
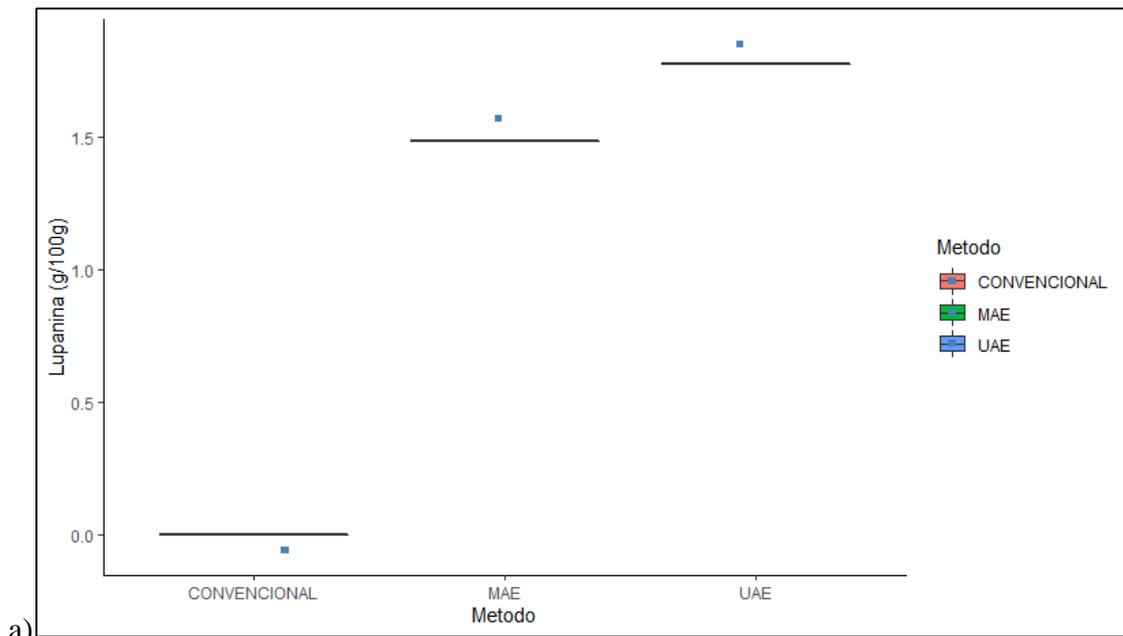


Figura 39. Tiempo de extracción de lupanina del Tarwi a diferentes métodos. a) Diagrama de barras del tiempo de desamargado, b) Curva exponencial de la diferencia en los tiempos de extracción.

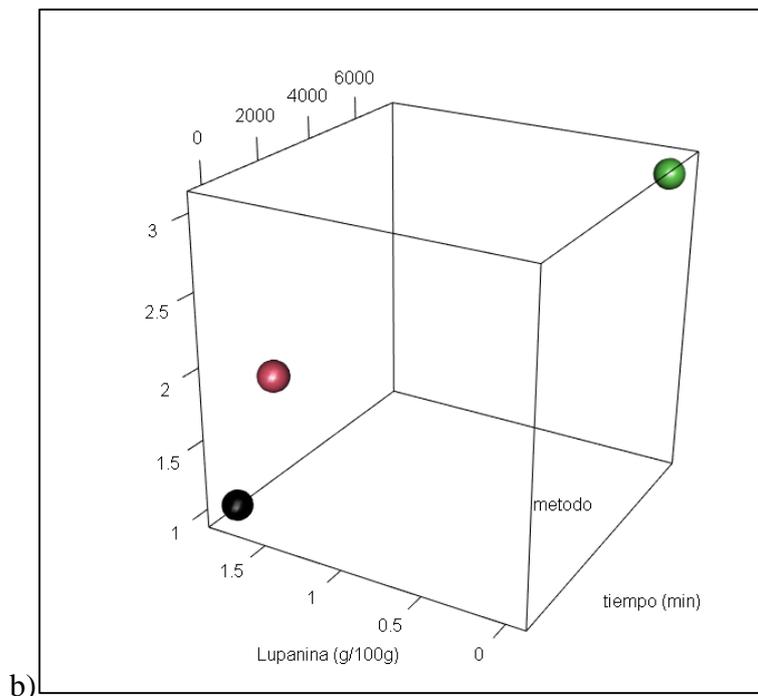
EAU: Siglas de la extracción asistida con ultrasonido.

MAE: Siglas en inglés de la extracción asistida por microondas.

Los resultados obtenidos en la presente investigación como se observa en la Tabla 19, el porcentaje de alcaloides redujo hasta 1.5 % de lupanina en el Tarwi en un tiempo de 9 min. con microondas y 1.8 % de lupanina en 15 min con ultrasonidos. Siendo estos resultados mejores que los autores antes mencionados, ayudando a reducir los tiempos y consumos de agua excesivos sin dejar de mencionar que siguiendo la predicción el desamargado total del Tarwi se daría en menos de dos horas, para ambos tratamientos del grano hidratado y congelado. Que ayuda significativamente el proceso de extracción con microondas y ultrasonido respecto a la convencional. Como se observa en la Figura 40b, la extracción con microondas (metodo 2, color rojo), logró menores valores en el contenido de lupanina frente a la extracción con ultrasonido (color negro), ambos métodos a tiempos mucho menores respecto al método convencional que se ve alejado en la imagen (color verde). Se muestra un imagen en la (Figura 56 del Anexo1), de la relación entre el método y la concentración de alcaloides y el tiempo.



a)



b)

Figura 40. Relación entre metodologías de extracción en el contenido de lupanina. a) Gráfico 2D y b) Gráfico 3D.

UAE: Siglas en inglés de la extracción asistida con ultrasonido.

MAE: Siglas en inglés de la extracción asistida por microondas.

Una extracción de alcaloides de *Stephania sinica* por microondas, ultrasonido y convencional desarrollado por Xie *et al.* (2014), obtuvo mejores rendimientos en la EAM con una concentración de etanol 65 %, tiempo de extracción 90 s, temperatura 60 °C, y potencia de

microondas 150 W, respecto a los 30 minutos extraídos por EAU. De esta forma la extracción con metodologías emergentes ayuda significativamente en los rendimientos respecto a los métodos convencionales.

Basado en los antecedentes antes mencionados, la incorporación de ambos métodos en una misma muestra obtendría mayores resultados como se desarrolló en la extracción de aceites de pimienta realizada por Wang *et al.* (2018), la extracción por EAUM tuvo mejores rendimientos que la EAU y la EAM debido a la cavitación acústica y el calentamiento rápido de las ondas ultrasónicas y microondas al mismo tiempo. Por lo cual sería materia de investigación para posteriores trabajos para reducir más los tiempos y evaluar los efectos, del lupino desamargado.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos es posible concluir que:

- El proceso de congelación previa al desamargado por los métodos de extracción, permite reducir un 15 % de lupanina a una humedad de 75% b.h.
- Los parámetros óptimos registrados para la extracción de alcaloides por el método de microondas son: Potencia de 630 W, tiempo de 9 - 30 minutos. Para la extracción por el método de ultrasonido los parámetros óptimos son: Intensidad de Frecuencia a 28 kHz y potencia de 100 W.
- La mejor difusividad efectiva determinada es por el método de microondas a $8.12 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$, seguida del ultrasonido con $2.09 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ y con menor difusividad el método convencional a $0.00693 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$.
- La mejor reducción de lupanina se obtuvo por microondas, respecto al ultrasonido extrayendo hasta un 70 % la lupanina a un nivel de potencia del 31.204 W/g durante 9 min y 64 % de lupanina a una intensidad de frecuencia de 28 kHz: 100 W durante 15 min respectivamente, siendo significativamente cortos frente a los tiempos de un desamargado convencional que puede ser de 7260 min para llegar al 0.02 % de lupanina en el Tarwi. Existen diferencias sensoriales en la textura y color entre tratamientos, en las muestras extraídas por ultrasonidos presentaron mayor dureza y mayor complejidad de romper frente a las muestras extraídas con microondas.

5.2. RECOMENDACIONES

- Se recomienda evaluar los efectos que pueden generar en la composición nutricional y física de los granos de Tarwi luego de haberse sometido a los tratamientos de microondas y ultrasonido.
- Realizar lavados post tratamiento para lograr la difusividad total del alcaloide respecto a la cantidad mínima permitida por NTP 205.090 2018, u en su defecto realizar los cambios de agua durante el proceso de extracción con intervalos de tiempo ya sea por microondas y ultrasonido, debido a que genera saturaciones de concentración en el solvente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar-acosta, L. A., Serna-saldivar, S. O., Escalante-aburto, A., & Chuck-hern, C. (2020). Effect of Ultrasound Application on Protein Yield and Fate of Alkaloids during Lupin Alkaline Extraction Process. *Biomolecules*, *10*(292). <https://doi.org/doi:10.3390/biom10020292>
- Akhtar, I., Javad, S., Yousaf, Z., Iqbal, S., & Jabeen, K. (2012). Microwave assisted extraction of phytochemicals an efficient and modern approach for botanicals and pharmaceuticals. *Dept. of Botany, Lahore College for Women University, Lahore, Pakistan*, pp. 223–230.
- Anbalagan, K., Kumar, M. M., Ilango, K., Mohankumar, R., & Priya, R. L. (2019). Prelusive scale extraction of mangiferin from *Mangifera indica* leaves: Assessing solvent competency, process optimization, kinetic study and diffusion modelling. *Industrial Crops and Products*, *140*(August), 111703. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111703>
- Angiolillo, L., Nobile, M. A. Del, & Conte, A. (2015). The extraction of bioactive compounds from food residues using microwaves. *Food Engineering and Processing*, *5*, 93–98. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.10.001>
- Arrutia, F., Adam, M., Calvo-carrascal, M. Á., Mao, Y., & Binner, E. (2020). Development of a continuous- flow system for microwave-assisted extraction of pectin-derived oligosaccharides from food waste. *Chemical Engineering Journal*, *395*(January), 125056. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.125056>
- Awad, T. S., Moharram, H. A., Shaltout, O. E., Asker, D., & Youssef, M. M. (2012). Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. *Food Research International*, *48*(2), 410–427. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.05.004>
- Badui-Dergal, S. (2006). *Química de los alimentos* (Cuarta edi; E. Q. Duarte, Ed.). Mexico: Pearson Educación de México.
- Bhagya Raj, G. V. S., & Dash, K. K. (2020). Ultrasound-assisted extraction of

- phytocompounds from dragon fruit peel: Optimization, kinetics and thermodynamic studies. *Ultrasonics Sonochemistry*, 68, 105180. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105180>
- Boschin, G., Annicchiarico, P., Resta, D., D'Agostina, A., & Arnoldi, A. (2008). Quinolizidine alkaloids in seeds of lupin genotypes of different origins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(10), 3657–3663. <https://doi.org/10.1021/jf7037218>
- Cadema, X., Gandarillas, A., Ana, P., & Ravelo, A. (Eds.). (2019). *Conferencia Internacional de Lupino 2019*. Retrieved from http://www.ghbook.ir/index.php?name=فرهنگ و رسانه های نوین&option=com_dbook&task=readonline&book_id=13650&page=73&chkhask=E D9C9491B4&Itemid=218&lang=fa&tmpl=component
- Carvajal-larenas, F. E., Koziol, M., Linnemann, A. R., Nout, M. J. R., & Boekel, M. A. J. S. Van. (2014). Consumer liking , purchase intent , and willingness to pay for *Lupinus mutabilis Sweet* in relation to debittering treatments. *Food Quality and Preference*, 40, 221–229. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2014.10.006>
- Carvajal-Larenas, F. E., Linnemann, A. R., Nout, M. J. R., Koziol, M., & van Boekel, M. A. J. S. (2016). *Lupinus mutabilis*: Composition, Uses, Toxicology, and Debittering. *Food Science and Nutrition*, 56(9), 1454–1487. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.772089>
- Carvajal-Larenas, F. E., Nout, M. J. R., van Boekel, M. A. J. S., Koziol, M., & Linnemann, A. R. (2013). Modelling of the aqueous debittering process of *Lupinus mutabilis Sweet*. *LWT - Food Science and Technology*, 53(2), 507–516. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.03.017>
- Carvajal-Larenas, F. E., Van Boekel, M. J. A. S., Koziol, M., Nout, M. J. R., & Linnemann, A. R. (2014). Effect of processing on the diffusion of alkaloids and quality of *Lupinus Mutabilis sweet*. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38(4), 1461–1471. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12105>
- Castillo, E. G. S. R., Aranibar, P. R. C., Polar, M. G. S., Fuentes, L. V. G., & Bolaños, E. Z.

- (2014). Aplicaciones y Teoría de Ingeniería de Microondas. In Intergovernmental Panel on Climate Change (Ed.), *Climate Change 2013 - The Physical Science Basis* (Vol. 53). <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Castillo, J. A. (2002). *Diccionario Técnico de Industrias Alimentarias*. Cusco, Perú.
- Castro, J. N. A., Abarca, A. R. C., Gatti, Y. M. D. L. N. M., & Estrada, Y. G. R. (2013). *Planeamiento Estratégico del Tarwi*.
- Cedrón, J., Landa, V., & Robles, J. (2011). *Química general PUCP*. Obtenido de <http://corinto.pucp.edu.pe/quimicageneral/contenido/22-velocidad-de-reaccion.html>
- Cengel, Y. A. (2007). *Transferencia de calor y masa*. (Vol. 53).
- Chemat, F., Rombaut, N., Meullemiestre, A., Turk, M., Perino, S., & Abert-vian, M. (2017). Review of Green Food Processing techniques . Preservation , transformation , and extraction. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 41(November 2016), 357–377. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.04.016>
- Chemat, F., Zill-e-Huma, & Khan, M. K. (2010). Applications of Ultrasound in Food Technology : Processing , Preservation and Extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, (December). <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2010.11.023>
- Chen, Q., Dong, W., Wei, C., Hu, R., & Long, Y. (2020). Industrial Crops & Products Combining integrated ultrasonic-microwave technique with ethanol to maximise extraction of green coffee oil from Arabica coffee beans. *Industrial Crops & Products*, 151(March), 112405. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112405>
- Chhavarath, D., Baghdikian, B., Sothea, K., Mabrouki, F., Sovanmoly, H., Florian, J., ... Sok-Siya, B. (2017). Optimization of ultrasound-assisted extraction of bioactive alkaloids from *Stephania cambodica* using response surface methodology Optimisation de l ' extraction assist ee par ultrasons des alcaloïdes bioactifs de *Stephania cambodica* par la m ethodologie d. *Comptes Rendus Chimie*, 20, 996–1005. <https://doi.org/10.1016/j.crci.2017.09.004>
- Chirinos, M. (2015). Andean Lupin (*Lupinus mutabilis Sweet*) a plant with nutraceutical

and medicinal potential Tarwi (*Lupinus mutabilis Sweet*) una planta con potencial nutritivo y medicinal. *Revista Bio Ciencias*, 51(1), 163–172. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.15741/revbio.03.03.03>

Chuyen, H. V, Parks, S. E., Nguyen, M. H., Roach, P. D., & Golding, J. B. (2018). assisted extraction and ultrasound- - assisted extraction for recovering carotenoids from Gac peel and their effects on antioxidant capacity of the extracts. *Food Science & Nutrition*, (October 2017), 189–196. <https://doi.org/10.1002/fsn3.546>

Clemente Polo, G. (2003). *Efecto de la contraccion en la cinetica de secado de musculos de jamon.*

Cortés-Avenidaño, P., Tarvainen, M., Suomela, J. P., Glorio-Paulet, P., Yang, B., & Repo-Carrasco-Valencia, R. (2020). Profile and Content of Residual Alkaloids in Ten Ecotypes of *Lupinus mutabilis Sweet* after Aqueous Debitting Process. *Plant Foods for Human Nutrition*, 75(2), 184–191. <https://doi.org/10.1007/s11130-020-00799-y>

Crank, J. (1957). *The Mathematics of Diffusion.*

da Rosa, G. S., Vanga, S. K., Garipey, Y., & Raghavan, V. (2019). Comparison of microwave, ultrasonic and conventional techniques for extraction of bioactive compounds from olive leaves (*Olea europaea L.*). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 102234. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.102234>

Dary, C., Baghdikian, B., Kim, S., Mabrouki, F., Hul, S., Jabbour, F., ... Bun, S. S. (2017). Optimization of ultrasound-assisted extraction of bioactive alkaloids from *Stephania cambodica* using response surface methodology. *Comptes Rendus Chimie*, 20(11–12), 996–1005. <https://doi.org/10.1016/j.crci.2017.09.004>

Desgrouas, C., Baghdikian, B., Mabrouki, F., Bory, S., Taudon, N., Parzy, D., & Ollivier, E. (2014). Rapid and green extraction , assisted by microwave and ultrasound of cepharanthine from *Stephania rotunda Lour.* *SEPARATION AND PURIFICATION TECHNOLOGY*, 123, 9–14. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2013.12.016>

Dong, M. W., & Guillarme, D. (2013). Newer Developments in HPLC Impacting Pharmaceutical Analysis : A Brief Review. *American Pharmaceutical Review*, 16(4),

- Dubois, O., Allanic, C., Charvet, C. L., Guégnard, F., Février, H., Théry-Koné, I., ... Sallé, G. (2019). Lupin (*Lupinus spp.*) seeds exert anthelmintic activity associated with their alkaloid content. *Scientific Reports*, 9(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45654-6>
- Dzah, C. S., Duan, Y., Zhang, H., Wen, C., & Zhang, J. (2020). The effects of ultrasound assisted extraction on yield, antioxidant, anticancer and antimicrobial activity of polyphenol extracts: A review. *Food Bioscience*, 100547. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100547>
- Espinosa Manfugás, J. (2007). *Evaluación Sensorial de los Alimentos*. Retrieved from file:///D:/MIS DOCUMENTOS/Downloads/LIBRO ANALISIS SENSORIAL-1 MANFUGAS.pdf
- Falconí, C. E. (2012). *In vitro cytotoxic activity of novel oleanane type of triterpenoid saponin from stem bark of Manilkara zapota Linn.*
- FAO. (2020). *FAOSTAT*. Retrieved from <http://www.fao.org/faostat/en/?#data/QC>
- Fattorusso, E., & Tagliatalata-Scafati, O. (2008). *Modern alkaloids* (E. Fattorusso & O. Tagliatalata-Scafati, Eds.). Deutsche Nationalbibliothek.
- Fermin, N., Venero, P., Conchado, D., & García, J. (2009). Entrenamiento sensorial para la evaluación de la calidad de un jamón endiablado. *Revista UDO Agrícola*, 9(3), 640–652.
- Fernández Cheza, E. E. (2017). *Determinación del contenido de antinutrientes en tres variedades de chocho (Andino INIAP 450, Guaranguito INIAP 451 y Criollo)* (Pontificia Universidad Católica del Ecuador; Vol. 01). Retrieved from <http://www.albayan.ae>
- Flores, N. (2015). “ *Entrenamiento de un Panel de Evaluación Sensorial , para el Departamento de Nutrición de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile .*” Universidad de Chile.

- Frick, K. M., Kamphuis, L. G., Siddique, K. H. M., Singh, K. B., & Foley, R. C. (2017). Quinolizidine alkaloid biosynthesis in lupins and prospects for grain quality improvement. *Frontiers in Plant Science*, Vol. 8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00087>
- Gade, D. W. (2015). Particularizing the Columbian exchange: Old World biota to Peru. *Journal of Historical Geography*, 48, 26–35. <https://doi.org/10.1016/j.jhg.2015.01.001>
- Galek, R., Sawicka-Sienkiewicz, E., Zalewski, D., Stawinski, S., & Spychała, K. (2017). Searching for Low Alkaloid Forms in the Andean Lupin (*Lupinus mutabilis*) Collection. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 2017(2), 55–62. <https://doi.org/10.17221/71/2016-CJGPB>
- Ganzera, M., Krüger, A., & Wink, M. (2010). Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis Determination of Quinolizidine alkaloids in different *Lupinus* species by NACE using UV and MS detection. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 53(5), 1231–1235. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2010.05.030>
- García, J. (2007). *Contribución Al Estudio De La Aplicación De Ultrasonidos De Potencia En El Secado Convectivo De Alimentos*.
- Gavino, G., Isuiza, P., & Saavedra, N. (2018). Determinación del perfil de textura sensorial de dos muestras experimentales de hot- dog de pollo (*Gallus gallus*) obtenidas por Ingeniería Kansei Tipo II Determination of the sensory texture profile of two experimental chicken hot-dog samples. *Anales Científicos*, 79(1), 210–217. Retrieved from <file:///C:/Users/w7user/Downloads/Dialnet-DeterminacionDelPerfilDeTexturaSensorialDeDosMuest-6490050.pdf>
- Geankoplis, C. J. (1998). *PROCESOS DE TRANSPORTE Y OPERACIONES UNITARIAS*.
- Götz, N. (2014). *Entwicklung und Etablierung einer Methode für die zerstörungsfreie Bestimmung des Alkaloidgehaltes im Samen der Blauen Lupine (lat .: *Lupinus angustifolius* L .) Zur Erlangung des akademischen Grades - Bachelor of Science (B . Sc .) - Danksagung*.
- Gross, R., Von-Baer, E., Koch, F., Marquard, R., Trugo, L., & Wink, M. (1988). *Chemical*

Composition of a New Variety of the Andean Lupin (Lupinus mutabilis cv . Inti) with Low-Alkaloid Content Sample Description. 1(1942), 353–361.
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0889-1575\(88\)90035-X](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0889-1575(88)90035-X)

Gutiérrez, Ana; Infantes, Marcos; Pascual, Gloria; Zamora, J. (2016). Evaluación de los factores en el desamargado de Tarwi (*Lupinus mutabilis Sweet*). *Agroindustrial Science*, 5(1), 127–132. <https://doi.org/10.17268/agroind.science.2015.02.04>

Hatzold, T., Elmadfa, I., Gross, R., Wink, M., & Hartmann, T. (1983). Quinolizidine Alkaloids in Seeds of. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 31, 934–938.

Hernandez Alarcon, E. (2005). *EVALUACIÓN SENSORIAL*.

Hindler, H., & Huisa, C. (2017). *Universidad nacional del callao*. Universidad Nacional del Callao.

Hondelmann, W. (1984). The lupin - ancient and modern crop plant *. *Theor Appl*, 68, 1–9.

INACAL. (2019). Norma tecnica peruana 205.090. *Instituto Nacional de La Calidad*, 2, 1–14.

Ineda Muñoz, C. F., Ramirez Vargas, M. del R., Medina Moreno, S. A., VILLANUEVA-IBÁÑEZ, M., Lucho Constantino, C. A., Térrez Jurado, A., ... Jiménez Gonzales, A. (2017). Cuantificación de la energía específica aplicada por un baño ultrasónico mediante el método de calorimetría y capacidad de disgregación de lodo anaerobio. *Revista de Ingeniería Biomédica y Biotecnología*, 1(December).

Islam, S., & Sciences, L. (2016). *S Islam , School of Veterinary and Life Sciences, Murdoch University, Perth, WA, Australia W Ma , School of Veterinary and Life Sciences, Murdoch University, Perth, WA, Australia; Australia Export Grains Innovation Centre, Perth, WA, Australia. 579–585.* <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00432-3>

Jacobsen, S.-E., & Mujica, A. (2008). Geographical distribution of the Andean lupin (*Lupinus mutabilis Sweet*). *Plant Genetic Resources Newsletter*, (155), 1–8.

Jacobsen, S. E., & Mujica, A. (2006). El Tarwi (*Lupinus mutabilis Sweet*.) y sus parientes silvestres. *Botanica Economica de Los Andes Centrales- Universidad Mayor de San*

Andrés, 458–482.

- Jiménez-Martínez, C., Hernández-Sánchez, H., Álvarez-Manilla, G., Robledo-Quintos, N., Martínez-Herrera, J., & Dávila-Ortiz, G. (2001). Effect of aqueous and alkaline thermal treatments on chemical composition and oligosaccharide, alkaloid and tannin contents of *Lupinus campestris* seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *81*(4), 421–428. [https://doi.org/10.1002/1097-0010\(200103\)81:4<421::AID-JSFA829>3.0.CO;2-U](https://doi.org/10.1002/1097-0010(200103)81:4<421::AID-JSFA829>3.0.CO;2-U)
- Jiménez-Martínez, Cristian, Hernández-Sánchez, H., & Dávila-Ortiz, G. (2007). *Diminution of quinolizidine alkaloids, oligosaccharides and phenolic compounds from two species of Lupinus and soybean seeds by the effect of Rhizopus oligosporus*. *1322*(September 2006), 1315–1322. <https://doi.org/10.1002/jsfa>
- Kaiser, N., Douches, D., Dhingra, A., Glenn, K. C., Herzig, P. R., Stowe, E. C., & Swarup, S. (2020). The role of conventional plant breeding in ensuring safe levels of naturally occurring toxins in food crops. *Trends in Food Science and Technology*, *100*(April), 51–66. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.03.042>
- Kaufmann, B., & Christen, P. (2002). Recent extraction techniques for natural products: Microwave-assisted extraction and pressurised solvent extraction. *Phytochemical Analysis*, *13*(2), 105–113. <https://doi.org/10.1002/pca.631>
- Kole, C. (2011). Wild crop relatives: Genomic and breeding resources: Legume crops and forages. In *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources: Legume Crops and Forages*. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-14387-8>
- Kontou, S., Tsipi, D., Oreopoulou, V., & Tzia, C. (2001). Determination of ETU in Tomatoes and Tomato Products by HPLC-PDA . Evaluation of Cleanup Procedures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *49*, 1090–1097.
- Lee, S. H., & Kim, J. H. (2019). Kinetic and thermodynamic characteristics of microwave-assisted extraction for the recovery of paclitaxel from *Taxus chinensis*. *Process Biochemistry*, *76*, 187–193. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2018.11.010>
- Li, Y., Xu, X., Wang, J., Wang, Z., & Chen, F. (2012). Kinetics and thermodynamics

- characteristics of microwave assisted extraction of anthocyanins from grape peel. *Nongye Gongcheng Xuebao/Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 28(SUPPL.1), 326–332. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1002-6819.2012.z1.055>
- Liria, R. (2007). *"Guía para la Evaluación Sensorial de Alimentos "*. Lima.
- Lu, X., Zheng, Z., Li, H., Cao, R., Zheng, Y., Yu, H., ... Zheng, B. (2017). Optimization of ultrasonic-microwave assisted extraction of oligosaccharides from lotus (*Nelumbo nucifera Gaertn.*) seeds. *Industrial Crops and Products*, 107(May), 546–557. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.05.060>
- Magalhães, S. C. Q., Fernandes, F., Cabrita, A. R. J., Fonseca, A. J. M., Valentão, P., & Andrade, P. B. (2017). Alkaloids in the valorization of European *Lupinus* spp . seeds crop. *Industrial Crops & Products*, 95, 286–295. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.10.033>
- Maknickiene, Z., Asakaviciute, R., Baksienė, E., & Razukas, A. (2013). *Alkaloid content variations in*. 65(1), 107–112. <https://doi.org/10.2298/ABS1301107>
- Marić, M., Grassino, A. N., Zhu, Z., Barba, F. J., Brnčić, M., & Brnčić, S. R. (2018). An overview of the traditional and innovative approaches for pectin extraction from plant food wastes and by-products: Ultrasound-, microwaves-, and enzyme-assisted extraction. *Trends in Food Science & Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.03.022>
- Martinez-Navarrete, N., Andres-Grau, A. M., Chiralt-Boix, A., & Fito-Maupoe, P. (1999). *Termodinámica y cinética de sistemas alimento entorno* (Primera ed). España.
- Martinez, C. J. (2018). *Effect of aqueous and alkaline thermal treatments on chemical composition and oligosaccharide , alkaloid and tannin contents of Lupinus campestris seeds*. (January 2003).
- Masabanda Paucar, N. E. (2016). Diseño en la etapa de lavado en el proceso de desamargado del chocho para la reducción del tiempo de proceso y consumo de agua. *Escuela Politécnica Nacional*.

- Masciarelli, R., Stancich, S., & Fernando, S. (2012). *Transferencia de materia- Ingeniería de reacciones*.
- Mende, P., Wink, M., Biologie, P., & Braunschweig, D.-. (1987). Uptake of the Quinolizidine Alkaloid Lupanine by Protoplasts and Isolated Vacuoles of Suspension-cultured *Lupinus polyphyllus* Cells . Diffusion or Carrier-mediated Transport ? *Journal of Plant Physiology*, 129(3–4), 229–242. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(87\)80082-2](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(87)80082-2)
- Mercado, G. (2018). *Los caminos del Tarwi y la integración andina : Bolivia , Perú y Ecuador*.
- Miano, Alberto C., Rojas, M. L., & Augusto, P. E. D. (2019). Using ultrasound for improving hydration and debittering of Andean lupin grains. *Journal of Food Process Engineering*, 42(6), 1–5. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13170>
- Miano, Alberto Claudio, García, J. A., & Augusto, P. E. D. (2015). Correlation between morphology, hydration kinetics and mathematical models on Andean lupin (*Lupinus mutabilis* Sweet) grains. *LWT - Food Science and Technology*, 61(2), 290–298. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.12.032>
- Moreno, Á. H., Hernández, R., & Ballesteros, I. (2017). Secado industrial con energía microondas. *Aplicaciones Industriales de Calentamiento Con Energía Microondas*, (March 2019).
- Oliveira, B. H. De. (2014). HPLC Analysis of Alkaloids. *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, (iv). <https://doi.org/10.1002/9780470027318.a9921>
- Panter, K. E., Welch, K. D., & Gardner, D. R. (2017). Toxic plants. In *Reproductive and Developmental Toxicology*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804239-7.00046-9>
- Périno-Issartier, S., Zill-e-Huma, Abert-Vian, M., & Chemat, F. (2011). Solvent Free Microwave-Assisted Extraction of Antioxidants from Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) Food By-Products. *Food and Bioprocess Technology*, 4(6), 1020–1028. <https://doi.org/10.1007/s11947-010-0438-x>

- Petruczynik, A. (2012). Analysis of alkaloids from different chemical groups by different liquid chromatography methods. *Central European Journal of Chemistry*, 10(3). <https://doi.org/10.2478/s11532-012-0037-y>
- Petterson, D. S. (2004). LUPIN | Overview. *Encyclopedia of Grain Science*, 166–174. <https://doi.org/10.1016/b0-12-765490-9/00083-5>
- Plazzotta, S., Ibarz, R., & Manzocco, L. (2019). Optimizing the antioxidant biocompound recovery from peach waste extraction assisted by ultrasounds or microwaves. *Ultrasonics Sonochemistry*, 104954. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104954>
- Powrie, W. D. (1984). Chemical Effects during Storage of Frozen Foods. *Journal of Chemical Education*, 61(4), 340–347. <https://doi.org/10.1021/ed061p340>
- Pozar, D. M. (2012). *Microwave Engineering* (Fourth Edi). Vice President & Executive Publishe.
- Prolupin. (s.f.). *Prolupin* . Obtenido de <https://www.prolupin.com/indexen.html>
- Quispe Condori, R. Y. (2012). TESIS “Extracción y caracterización del aceite de Tarwi (*Lupinus mutabilis Sweet*).” Universidad Nacional del Altiplano.
- R Core, T. (2020). *R Foundation for statistical Computing, Viena, Australia*. Obtenido de <https://www.R-project.org/>.
- Ramiro, J. (2013). Modelado y simulación de la deshidratación combinada osmótica-microondas de frutihortícolas. *Uniersidad Nacional de La Plata*, 172.
- Reinhard, H., Rupp, H., Sager, F., Streule, M., & Zoller, O. (2006). Quinolizidine alkaloids and phomopsins in lupin seeds and lupin containing food Quinolizidine alkaloids and phomopsins in lupin seeds and lupin containing food. *Journal of Chromatography A*, 353–360(May 2006). <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.11.079>
- Resta, D., Boschini, G., Agostina, A. D., & Arnoldi, A. (2008). Evaluation of total quinolizidine alkaloids content in lupin flours , lupin-based ingredients , and foods. *Mol. Nutr. Food*, 490–495. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200700206>

- Resta, D., Boschin, G., D'Agostina, A., & Arnoldi, A. (2005). Quantification and quinolizidine alkaloids in lupin seeds, lipin-based ingredients in foods. *"Lupin for Health and Wealth,"* 533–535.
- Ringuelet, J., & Sonia, V. (2013). *Productos Naturales Vegetales* (primera). Buenos Aires.
- Robles-Ozuna, L. E., & Ochoa-Martinez, L. A. (2012). Ultrasonido y sus aplicaciones en el procesamiento de alimentos. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha.*
- Rodrigues, L. (2012). *Avaliação do ranking de friedman no cálculo da importancia relativa.* UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS.
- Rosa, R., Ferrari, E., & Veronesi, P. (2018). From Field to Shelf: How Microwave-Assisted Extraction Techniques Foster an Integrated Green Approach. *Emerging Microwave Technologies in Industrial, Agricultural, Medical and Food Processing.* <https://doi.org/10.5772/intechopen.73651>
- Roque Masciarelli, S. S. (2012). *Transferencia de materia.* Argentina.
- Rubiales, D., Wink, M., Marsolais, F., Boschin, C. G., Frick, K. M., Kamphuis, L. G., ... Foley, R. C. (2017). *Quinolizidine Alkaloid Biosynthesis in Lupins and Prospects for Grain Quality Improvement.* <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00087>
- Ruiz. (1978). Alkaloid analysis of "sweet" lupin seed by GLC. *Journal of Agricultural Research*, 21,241. 242.
- Salvadori, V. O. (1994). *Transferencia de calor durante la congelación, el almacenamiento y la descongelación de alimentos.* Retrieved from http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/1449/Documento_completo.pdf?sequence=1
- Sanca, D. Q. (2015). *"Composición nutricional de diez genotipos de lupino (L. mutabilis y L. albus) desamargados por proceso acuoso."* Retrieved from <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/2408/Q02-R459-T.pdf?sequence=1>
- Sánchez, J. A., Orta, R., & Muñoz, B. C. (2001). *Tratamientos pregerminativos de*

- hidratación-deshidratación de las semillas y sus efectos en plantas de interes agricola. *Agronomía Costarricense*, 25(1), 67–92.
- Shankar, V., Rajasekhar, K. K., Narendra, J., Kumar, B. G., Chennakeshava, S., & Girish, C. (2010). Available online through Microwave Assisted Extraction of Alkaloids from Nux vomica seeds and Cinchona bark. *Conflict*, 3(11), 2763–2764.
- Singh, R. P., & Heldman, D. R. (2014). Introduction to Food Engineering. In *Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1016/c2012-0-01661-4>
- Tapia, M. E. (2015). El Tarwi, Lupino Andino. *El Tarwi, Lupino Andino*, 1–108. Retrieved from <http://fadvamerica.org/wp-content/uploads/2017/04/TARWI-espanol.pdf>
- Trugo, L. C., Baer, D. von, & Baer, E. von. (2003). LUPIN. *Encyclopedia of Grain Science*, 3623–3629.
- Trugo, L. C., von Baer, E., & von Baer, D. (2016). Lupin Breeding. In *Reference Module in Food Science* (2nd ed.). <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-100596-5.00211-0>
- Valls, J. E. (2004). Extracción en fase sólida (SPE) para tratamiento de muestras de alimentos para análisis por cromatografía. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.16345.52325>
- Vijay, R., Id, K., & Butler, T. O. (2018). *Microwave-Assisted Extraction for Microalgae : From Biofuels to Biorefinery*. <https://doi.org/10.3390/biology7010018>
- Villacrés, E., Álvarez, J., & Rosell, C. (2020). Effects of two debittering processes on the alkaloid content and quality characteristics of lupin (*Lupinus mutabilis Sweet*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(5), 2166–2175. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10240>
- Vinatoru, M., Mason, T. J., & Calinescu, I. (2017). Ultrasonically Assisted Extraction (UAE) and Microwave Assisted Extraction (MAE) of Functional Compounds ... *Trends in Analytical Chemistry*, 97(September), 159–178. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.09.002>
- Von-Baer, D., Hartmut, E., & Feldheim, W. (1979). *Methoden zur Bestimmung der*

Chinolizidinalkaloide in Lupinus mutabilis. 169, 27–31.

- Waksmundzka-Hajnos, M., & Sherma, J. (2011). *High Performance Liquid Chromatography in Phytochemical Analysis* (Flieger Jo). United States of America.
- Wang, Y., Li, R., Jiang, Z. T., Tan, J., Tang, S. H., Li, T. T., ... Zhang, X. C. (2018). Green and solvent-free simultaneous ultrasonic-microwave assisted extraction of essential oil from white and black peppers. *Industrial Crops and Products*, 114(February), 164–172. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.02.002>
- Wani, S. A., Bishnoi, S., & Kumar, P. (2016). Ultrasound and microwave assisted extraction of diosgenin from fenugreek seed and fenugreek-supplemented cookies. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 10(3), 527–532. <https://doi.org/10.1007/s11694-016-9331-2>
- Wink, M. (1993). Quinolizidine Alkaloids. In *Methods in Plant Biochemistry* (Vol. 8). London.
- Wink, M., Meibner, C., Witte, L., Biologie, P., Heidelberg, U., Feld, I. N., ... Braunschweig, D.-. (1995). *PATTERNS OF QUINOLIZIDINE ALKALOIDS IN 56 SPECIES OF THE GENUS LUPINUS*. 38(1), 139–153.
- Wink, M., Schiebel, H. M., Witte, L., & Hartmann, T. (1982). Quinolizidine Alkaloids from Plants and their Cell Suspension Cultures . *Journal of Medicinal Plant Research*, 44(May), 15–20. <https://doi.org/10.1055/s-2007-971391>
- Xie, D.-T., Wang, Y., Kang, Y., Hu, Q., Su, N., & Huang, J. (2014). Microwave-assisted extraction of bioactive alkaloids from *Stephania sinica*. *Separation and Purification Technology*, 130, 173–181. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2014.04.026>
- Xiong, W., Chen, X., Lv, G., Hu, D., Zhao, J., & Li, S. (2016). Optimization of microwave-assisted extraction of bioactive alkaloids from *Lotus plumule* using response surface methodology. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(6), 382–388. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2016.05.007>
- Yang, L., Wang, H., Zu, Y., Zhao, C., Zhang, L., Chen, X., & Zhang, Z. (2011). Ultrasound-

assisted extraction of the three terpenoid indole alkaloids vindoline , catharanthine and vinblastine from *Catharanthus roseus* using ionic liquid aqueous solutions. *Chemical Engineering Journal*, 172(2–3), 705–712. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2011.06.039>

Zhong, L., Fang, Z., Wahlqvist, M. L., Wu, G., Hodgson, J. M., & Johnson, S. K. (2018). Seed coats of pulses as a food ingredient: Characterization, processing, and applications. *Trends in Food Science and Technology*, 80, 35–42. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.021>

ANEXOS

ANEXO 1: Imágenes obtenidas durante la ejecución de la investigación.

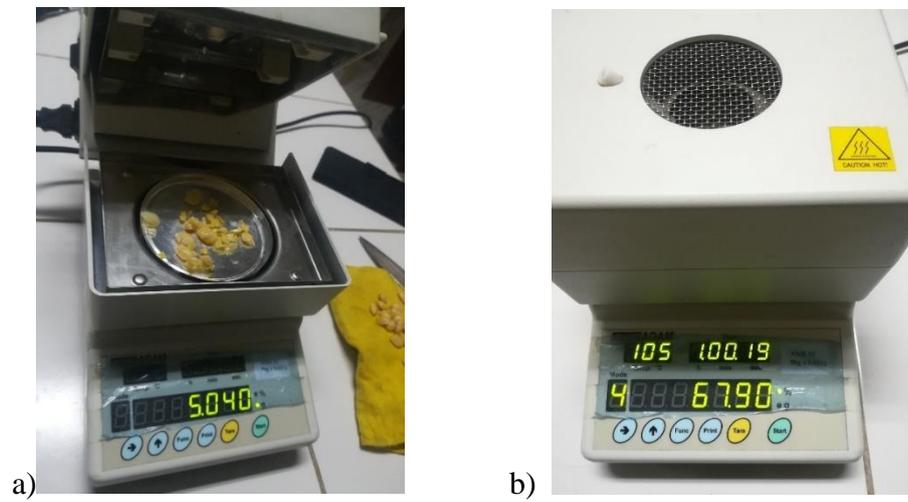


Figura 41: Determinación de humedad. a) Peso de muestra y b) Humedad final.



Figura 42: Desamargado por microondas.

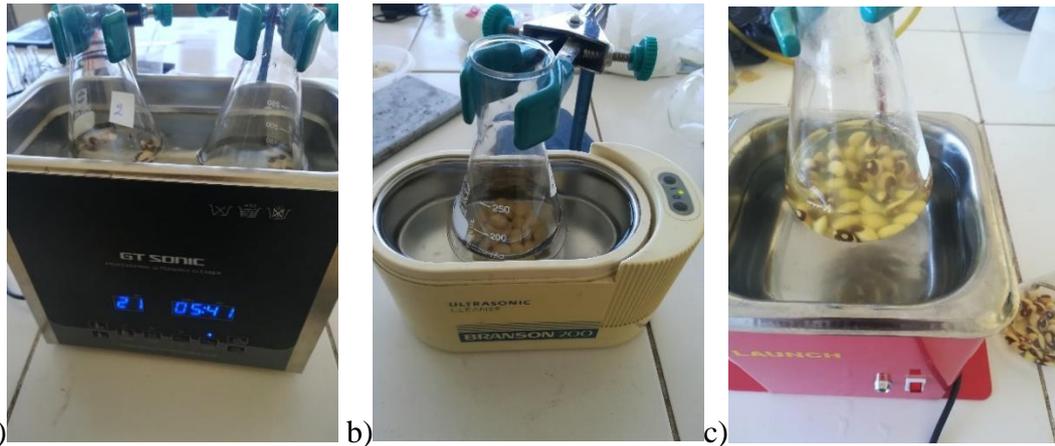


Figura 43: Desamargado por ultrasonidos. a) Ultrasonido de 40kHz-100W, b) Ultrasonido de 40kHz-27W y c) Ultrasonido de 28kHz-100W.

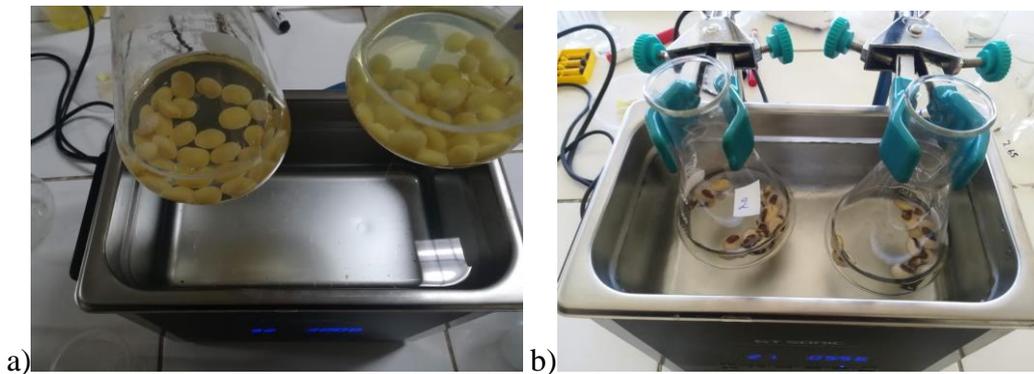


Figura 44: Desamargado de ecotipos por ultrasonido. a) Ultrasonido con muestras del ecotipo Yunyuyo, b) Ultrasonido con muestras del ecotipo Seccelambra.

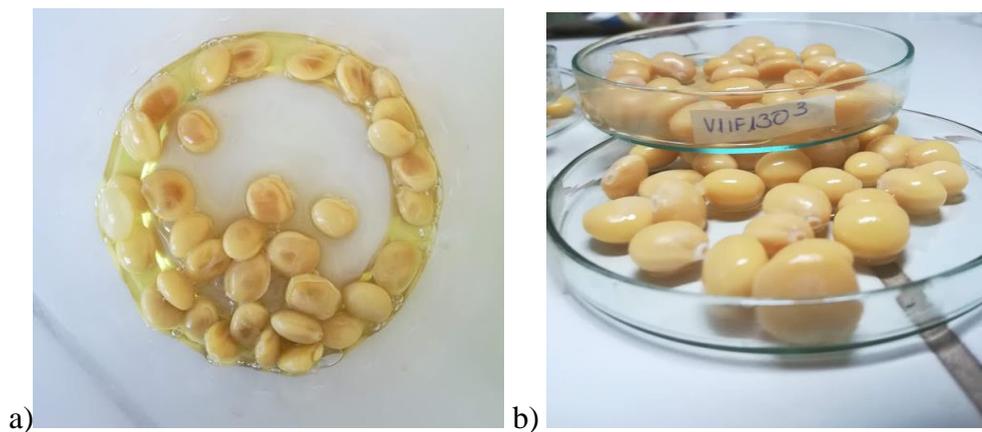


Figura 45: Tarwi parcialmente desamargado. a) Tarwi asistido por microondas al tiempo 30 minutos, b) Tarwi asistido por ultrasonido al tiempo 30 minutos.



Figura 46: Muestras del tarwi secas. a) Tarwi secados del ecotipo 1, b) Tarwi seco del ecotipo 2, c) Tarwi seco y molido.



Figura 47: Jueces desarrollando la prueba de textura.



Figura 48: Extracción de alcaloides-preparación de la muestra centrifugado-neutralización.

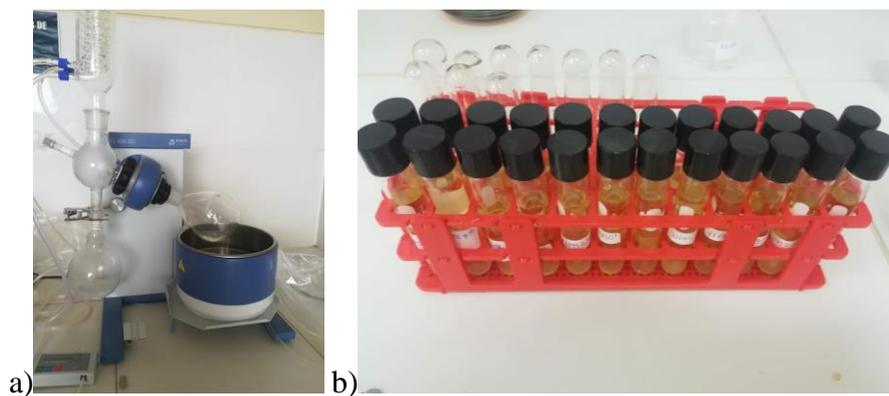


Figura 49: Extracción de alcaloides-preparación de la muestra. a) Elución en el rotavapor, b) Muestras eluidas en fase líquida para el UHPLC.



Figura 50: Preparación de las muestras para el UHPLC.

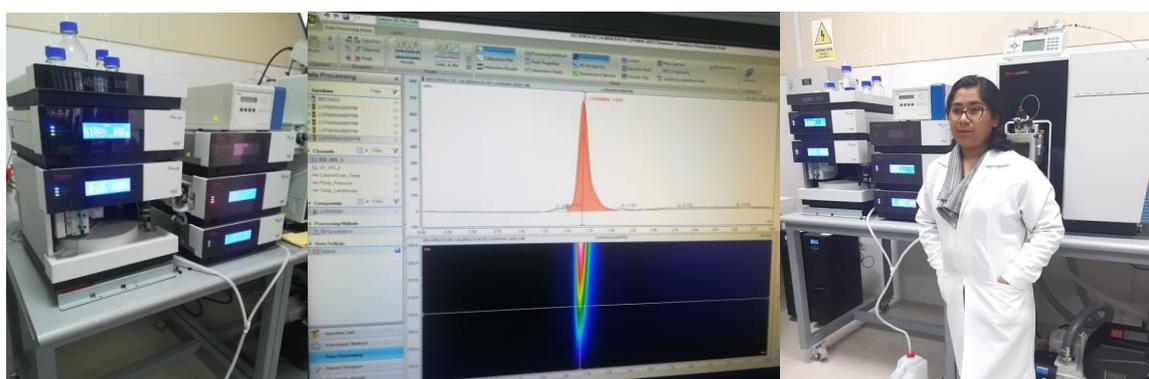
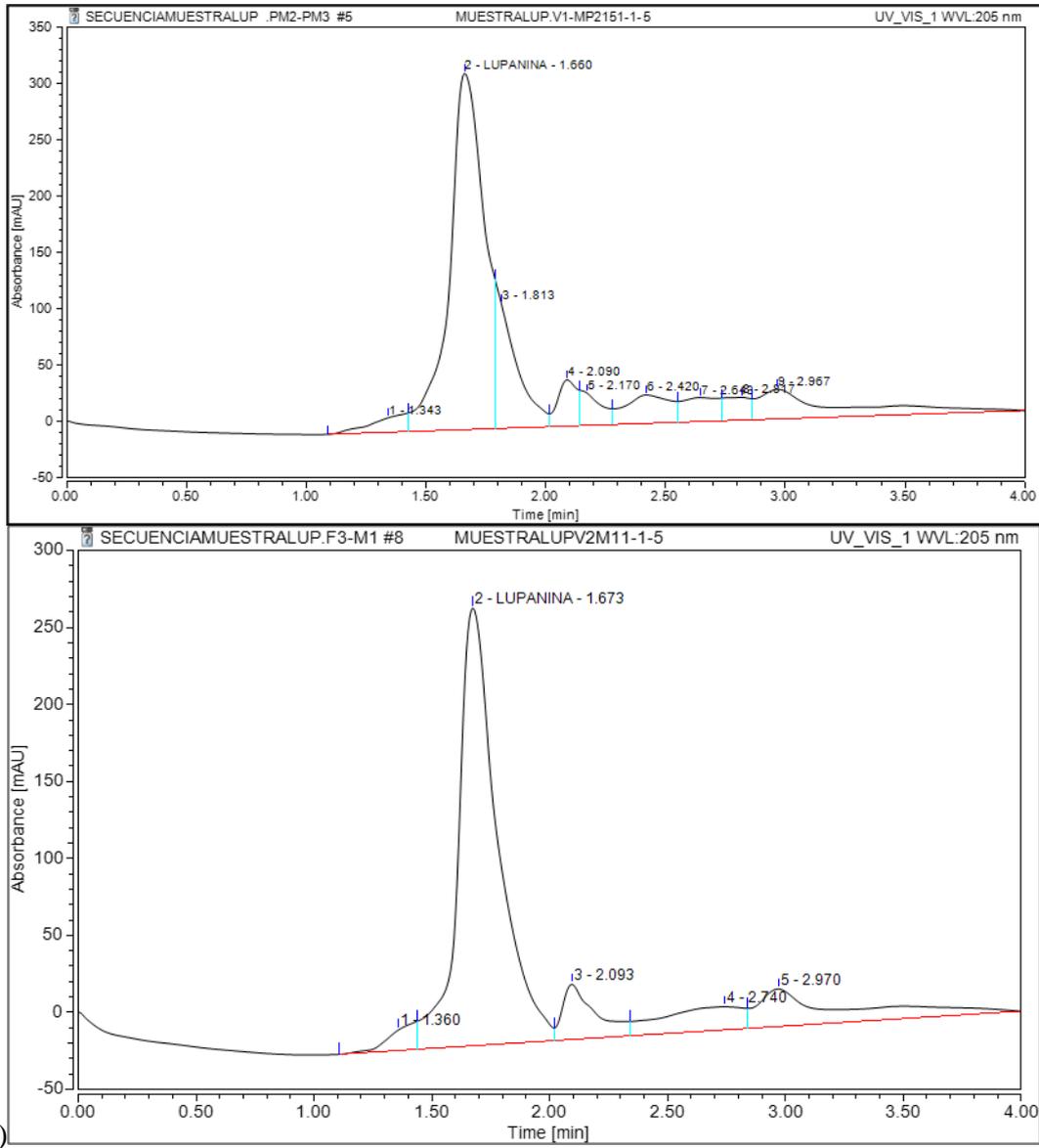


Figura 51: Equipo de UHPLC de la Escuela Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias – Sede Ayabacas-UNAJ.

CROMATOGRAMAS DEL UHPLC



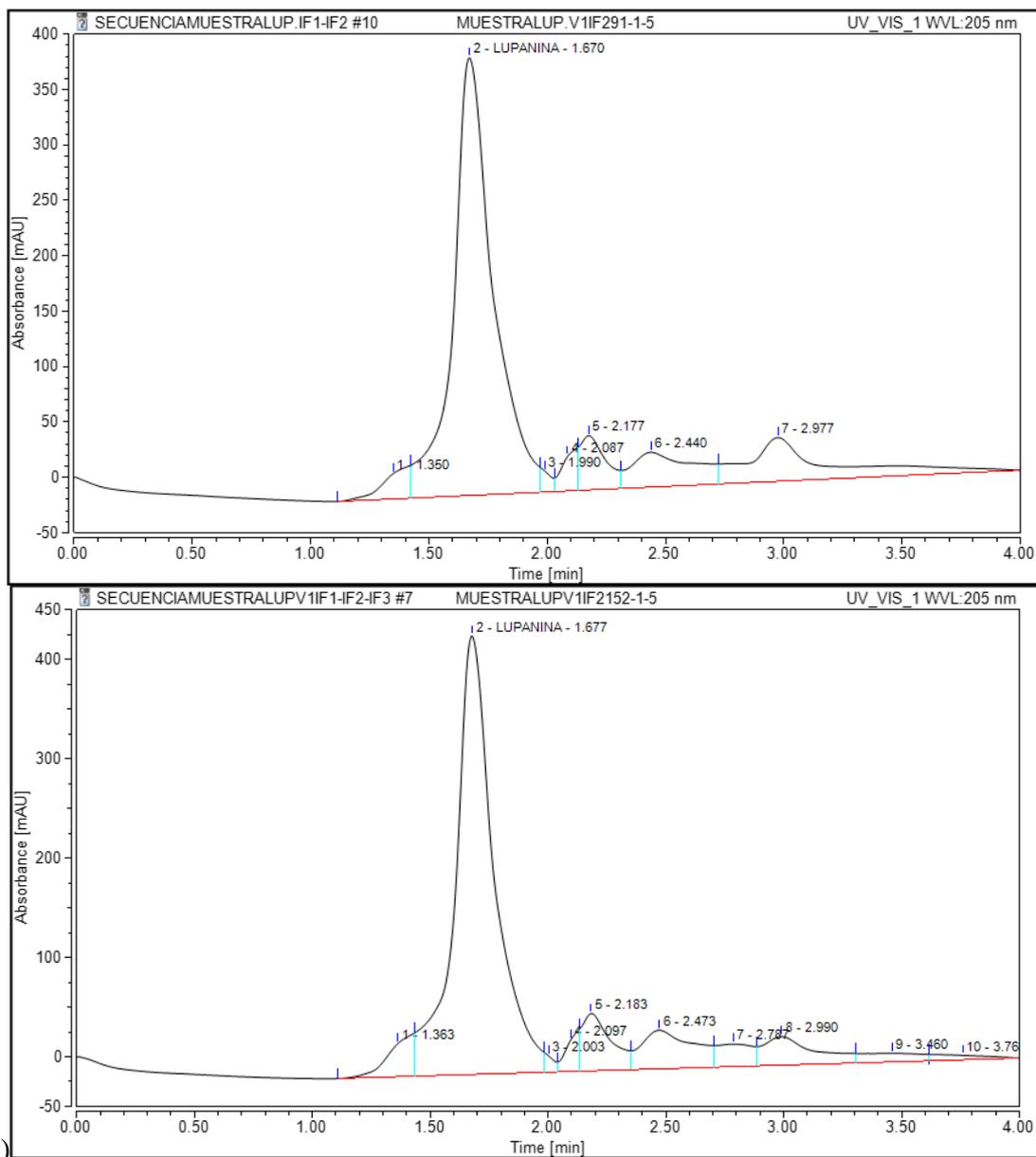


Figura 52: Representación del cromatograma del UHPLC. a) Cromatograma de muestras asistidas por microondas, b) Cromatograma de muestras asistidas por ultrasonido.

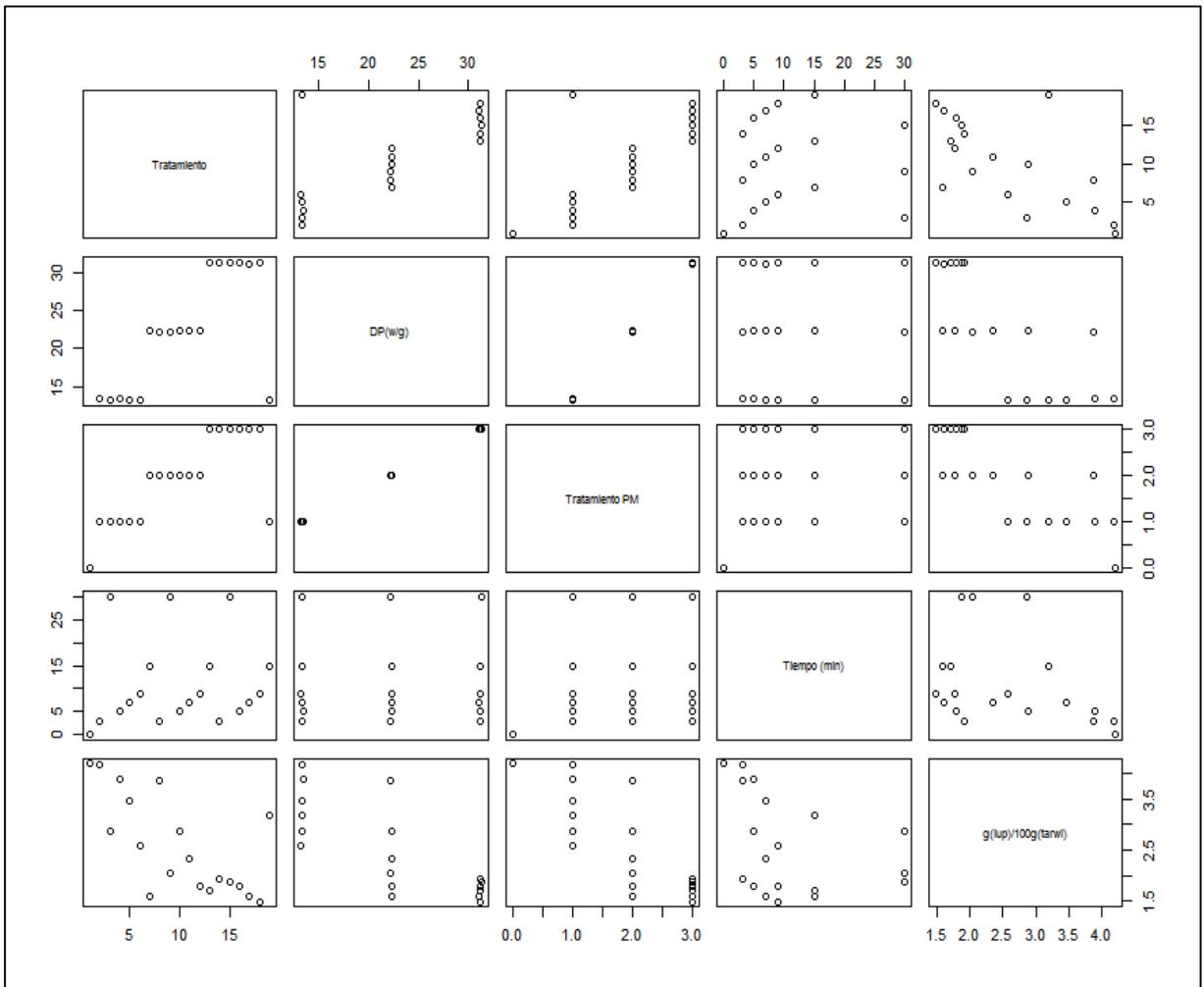


Figura 53: Relación de las variables independientes en la extracción de alcaloides del Tarwi por microondas.

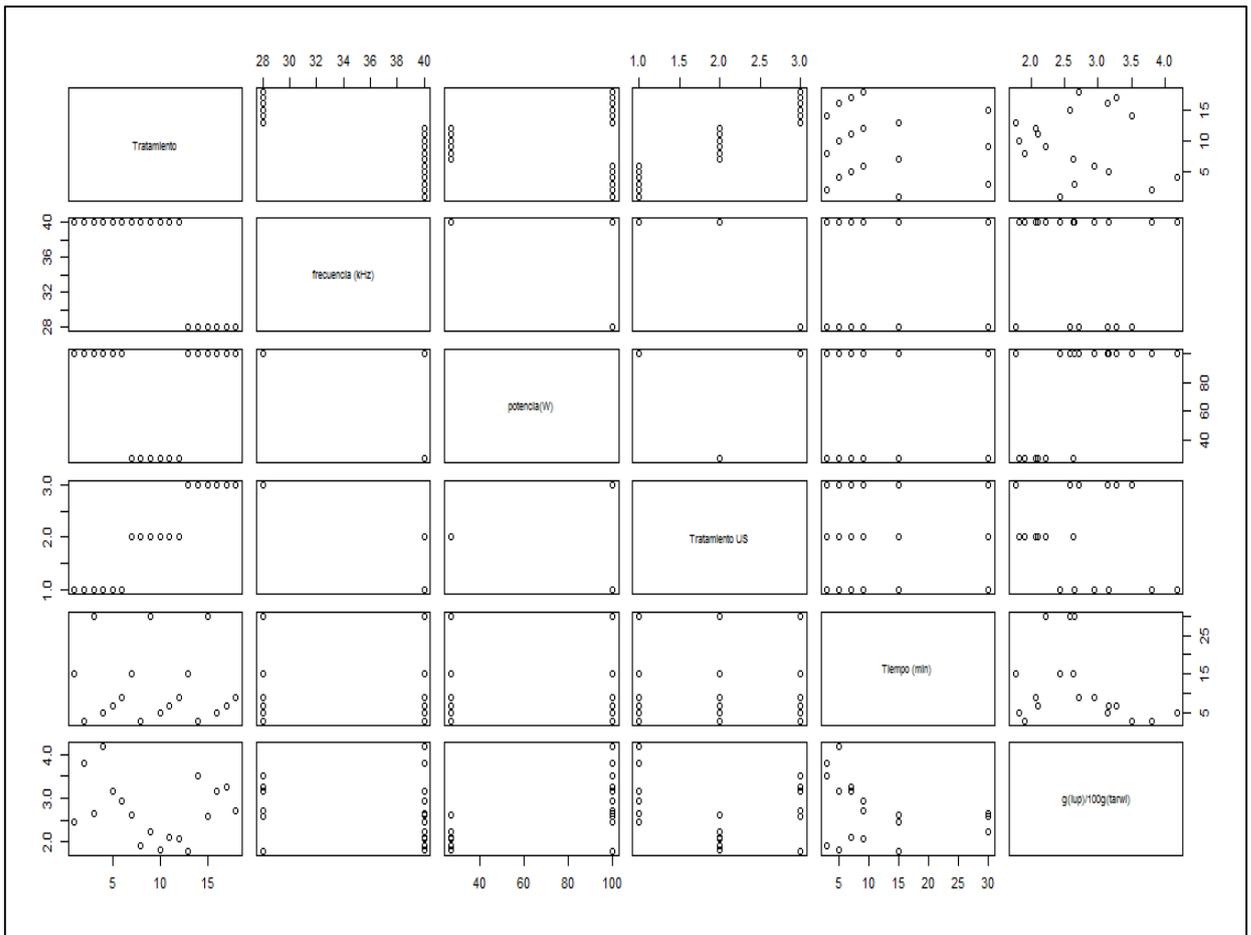


Figura 54: Relación de las variables independientes en la extracción de alcaloides del Tarwi por ultrasonidos.

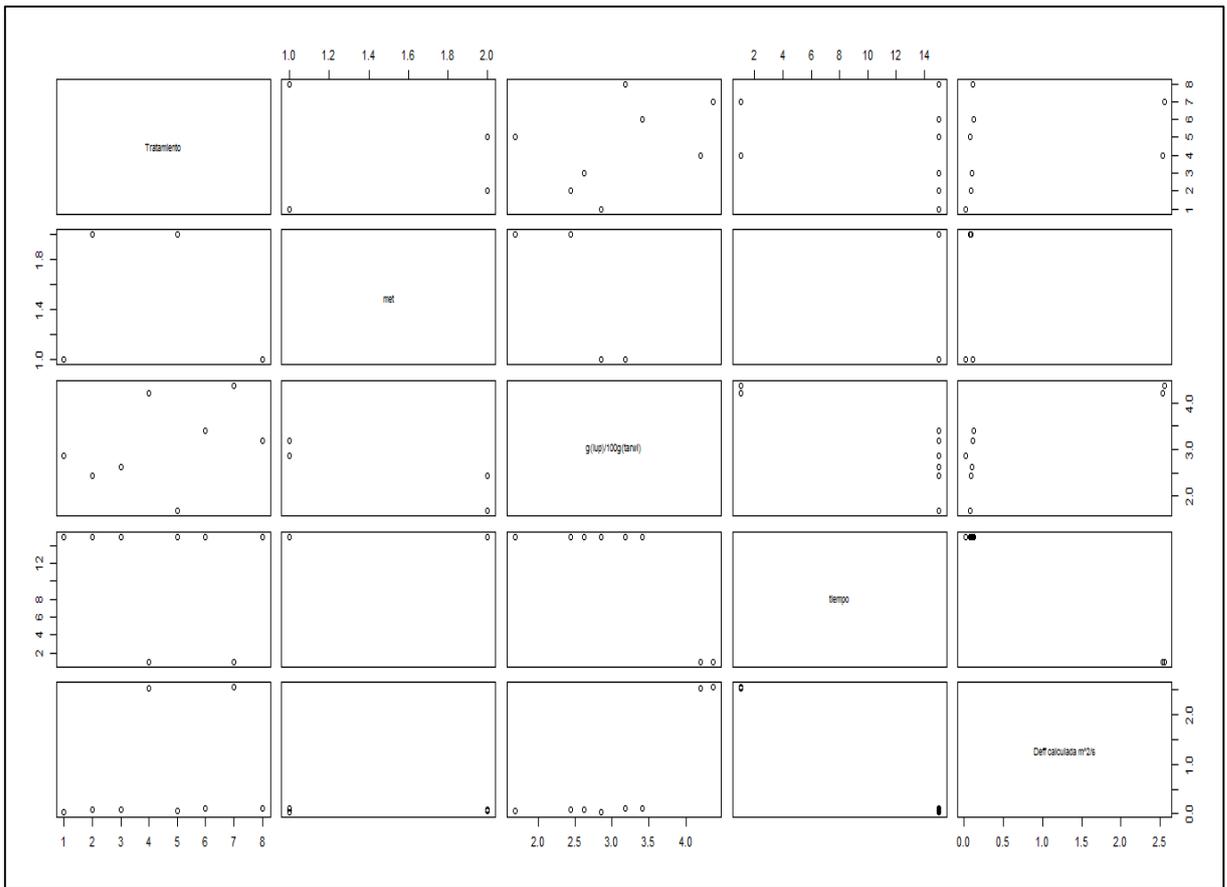


Figura 55: Relación de metodologías de extracción frente al contenido de lupanina y la Def.

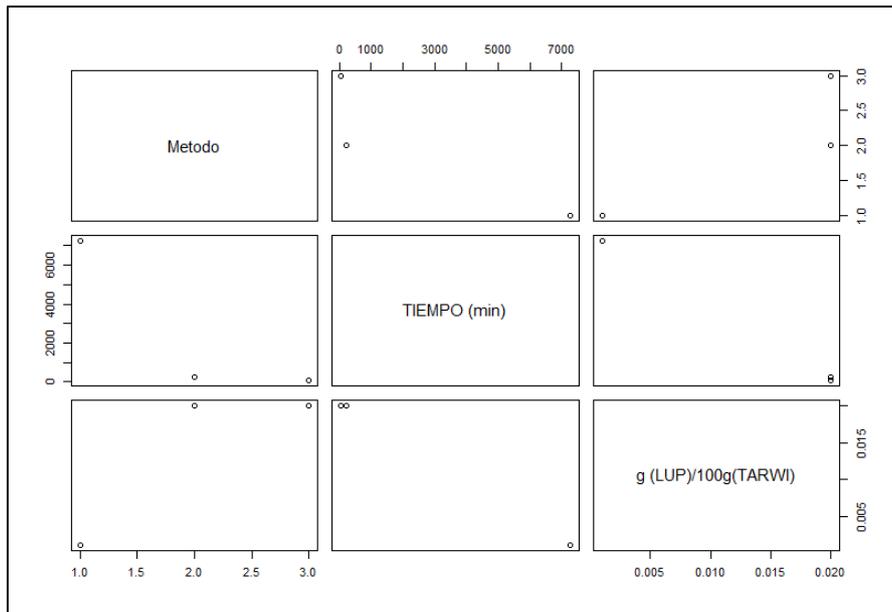


Figura 56: Relación entre metodologías de extracción.

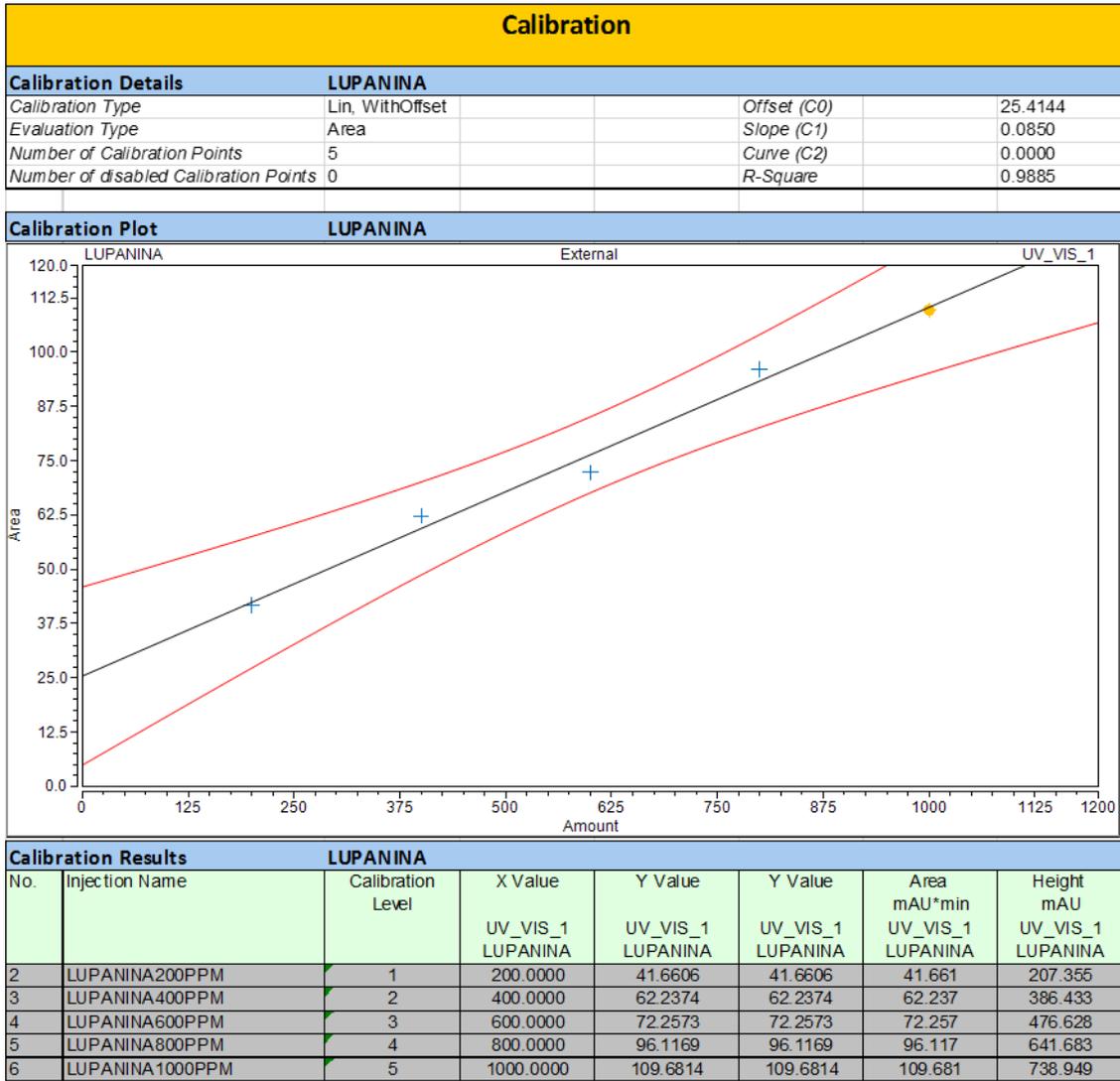


Figura 57: Calibración de Standar de lupanina.

Tabla 20: Prueba de textura del Tarwi.

PRUEBA DE TEXTURA DEL TARWI

Nombre: _____

Fecha: _____

Nombre del producto: _____

Frente a usted hay unas muestras de Tarwi, la cual debe observar describiendo las características de textura que estén presentes en la muestra.

Escriba sobre la casilla el número del término que más describa las cualidades de las muestras. El rango varía de (-3, -2,-1, 0, 1, 2, 3).

| PATRONES | M1 | M2 | M3 | M4 | M5 | M6 | M7 | M8 | M9 | M10 | M11 |
|---------------------------|--|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|
| Sensación inicial | | | | | | | | | | | |
| Mecánicas | | | | | | | | | | | |
| Dureza | | | | | | | | | | | |
| Fracturabilidad | | | | | | | | | | | |
| Geométricas | | | | | | | | | | | |
| Lisa | | | | | | | | | | | |
| Rugosa | | | | | | | | | | | |
| Grasa | | | | | | | | | | | |
| Sensación residual | | | | | | | | | | | |
| fácil de romper | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | |
| Comentarios: | <div style="border: 1px solid black; height: 100px; width: 100%;"></div> | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | |
| Muchas gracias. | | | | | | | | | | | |

Tabla 21: Calificación de jueces frente a los atributos de textura del Tarwi.

| Juez | Muestra | Código de Tratamiento | Cualidades | | | | | Fácil de romper |
|------|---------|-----------------------|------------|-----------------|------|--------|-------|-----------------|
| | | | Dureza | Fracturabilidad | Lisa | Rugosa | Grasa | |
| 1 | M1 | V1 | 7 | 6 | 7 | 4 | 7 | 1 |
| 1 | M2 | V2 | 7 | 6 | 7 | 4 | 5 | 4 |
| 1 | M3 | V1PM132 | 2 | 6 | 2 | 5 | 6 | 2 |
| 1 | M4 | V1IF352 | 7 | 2 | 2 | 5 | 5 | 6 |
| 1 | M5 | V1IPM352 | 2 | 4 | 2 | 6 | 4 | 7 |
| 1 | M6 | VIPM0 | 2 | 6 | 4 | 5 | 6 | 6 |
| 1 | M7 | V1IF301 | 7 | 3 | 1 | 6 | 4 | 3 |
| 1 | M8 | V2IF333 | 7 | 2 | 2 | 6 | 5 | 4 |
| 1 | M9 | V1PM2302 | 3 | 6 | 5 | 6 | 5 | 7 |
| 1 | M10 | V1IF251 | 2 | 6 | 1 | 6 | 6 | 6 |
| 2 | M1 | V1 | 7 | 6 | 6 | 4 | 7 | 2 |
| 2 | M2 | V2 | 7 | 7 | 7 | 4 | 6 | 1 |
| 2 | M3 | V1PM132 | 2 | 5 | 6 | 1 | 6 | 4 |
| 2 | M4 | V1IF352 | 7 | 7 | 4 | 6 | 6 | 5 |
| 2 | M5 | V1IPM352 | 2 | 3 | 4 | 7 | 7 | 3 |
| 2 | M6 | VIPM0 | 1 | 1 | 4 | 7 | 7 | 3 |
| 2 | M7 | V1IF301 | 2 | 2 | 4 | 6 | 6 | 2 |
| 2 | M8 | V2IF333 | 6 | 2 | 4 | 6 | 7 | 2 |
| 2 | M9 | V1PM2302 | 1 | 1 | 4 | 6 | 7 | 3 |
| 2 | M10 | V1IF251 | 6 | 2 | 4 | 7 | 6 | 2 |
| 3 | M1 | V1 | 7 | 7 | 7 | 1 | 5 | 1 |
| 3 | M2 | V2 | 7 | 7 | 6 | 3 | 6 | 7 |
| 3 | M3 | V1PM132 | 2 | 2 | 3 | 6 | 6 | 2 |
| 3 | M4 | V1IF352 | 7 | 7 | 2 | 6 | 6 | 7 |
| 3 | M5 | V1IPM352 | 6 | 6 | 5 | 6 | 6 | 2 |
| 3 | M6 | VIPM0 | 7 | 6 | 4 | 6 | 5 | 6 |
| 3 | M7 | V1IF301 | 7 | 6 | 3 | 6 | 6 | 3 |
| 3 | M8 | V2IF333 | 6 | 6 | 2 | 7 | 7 | 2 |
| 3 | M9 | V1PM2302 | 7 | 6 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| 3 | M10 | V1IF251 | 2 | 5 | 5 | 6 | 7 | 7 |
| 4 | M1 | V1 | 5 | 7 | 7 | 4 | 7 | 2 |
| 4 | M2 | V2 | 6 | 7 | 6 | 3 | 6 | 2 |
| 4 | M3 | V1PM132 | 6 | 6 | 5 | 4 | 5 | 4 |
| 4 | M4 | V1IF352 | 6 | 6 | 3 | 5 | 6 | 5 |
| 4 | M5 | V1IPM352 | 6 | 7 | 3 | 6 | 6 | 5 |
| 4 | M6 | VIPM0 | 3 | 6 | 2 | 3 | 6 | 3 |
| 4 | M7 | V1IF301 | 2 | 3 | 3 | 2 | 6 | 2 |
| 4 | M8 | V2IF333 | 6 | 6 | 2 | 6 | 6 | 3 |
| 4 | M9 | V1PM2302 | 6 | 7 | 5 | 6 | 6 | 6 |

«continuación»

| | | | | | | | | |
|---|-----|----------|---|---|---|---|---|---|
| 4 | M10 | V1IF251 | 3 | 6 | 6 | 6 | 7 | 7 |
| 5 | M1 | V1 | 7 | 5 | 7 | 4 | 5 | 3 |
| 5 | M2 | V2 | 7 | 6 | 7 | 4 | 5 | 5 |
| 5 | M3 | V1PM132 | 2 | 6 | 4 | 5 | 5 | 3 |
| 5 | M4 | V1IF352 | 2 | 6 | 4 | 6 | 5 | 5 |
| 5 | M5 | V1IPM352 | 1 | 7 | 4 | 5 | 5 | 5 |
| 5 | M6 | VIPM0 | 3 | 6 | 4 | 6 | 6 | 6 |
| 5 | M7 | V1IF301 | 4 | 6 | 4 | 5 | 6 | 6 |
| 5 | M8 | V2IF333 | 3 | 6 | 4 | 6 | 5 | 6 |
| 5 | M9 | V1PM2302 | 3 | 5 | 4 | 5 | 6 | 5 |
| 5 | M10 | V1IF251 | 5 | 5 | 4 | 5 | 5 | 5 |
| 6 | M1 | V1 | 7 | 2 | 7 | 2 | 7 | 1 |
| 6 | M2 | V2 | 7 | 1 | 7 | 2 | 7 | 1 |
| 6 | M3 | V1PM132 | 5 | 5 | 2 | 6 | 6 | 5 |
| 6 | M4 | V1IF352 | 6 | 4 | 5 | 3 | 5 | 3 |
| 6 | M5 | V1IPM352 | 6 | 3 | 3 | 5 | 5 | 6 |
| 6 | M6 | VIPM0 | 3 | 6 | 5 | 3 | 5 | 6 |
| 6 | M7 | V1IF301 | 6 | 2 | 5 | 3 | 5 | 5 |
| 6 | M8 | V2IF333 | 5 | 6 | 5 | 5 | 6 | 6 |
| 6 | M9 | V1PM2302 | 4 | 6 | 6 | 2 | 5 | 6 |
| 6 | M10 | V1IF251 | 5 | 4 | 5 | 5 | 6 | 5 |
| 7 | M1 | V1 | 7 | 5 | 7 | 4 | 5 | 2 |
| 7 | M2 | V2 | 7 | 5 | 7 | 4 | 6 | 1 |
| 7 | M3 | V1PM132 | 4 | 4 | 2 | 3 | 5 | 5 |
| 7 | M4 | V1IF352 | 6 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 7 | M5 | V1IPM352 | 5 | 4 | 3 | 3 | 6 | 5 |
| 7 | M6 | VIPM0 | 4 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 7 | M7 | V1IF301 | 6 | 2 | 5 | 6 | 5 | 6 |
| 7 | M8 | V2IF333 | 5 | 5 | 5 | 5 | 6 | 5 |
| 7 | M9 | V1PM2302 | 5 | 6 | 6 | 5 | 6 | 5 |
| 7 | M10 | V1IF251 | 4 | 5 | 5 | 4 | 6 | 5 |
| 8 | M1 | V1 | 7 | 5 | 7 | 4 | 6 | 2 |
| 8 | M2 | V2 | 7 | 4 | 7 | 4 | 7 | 1 |
| 8 | M3 | V1PM132 | 3 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 8 | M4 | V1IF352 | 6 | 6 | 4 | 4 | 5 | 6 |
| 8 | M5 | V1IPM352 | 5 | 6 | 5 | 3 | 5 | 4 |
| 8 | M6 | VIPM0 | 3 | 5 | 5 | 4 | 6 | 5 |
| 8 | M7 | V1IF301 | 6 | 3 | 4 | 4 | 5 | 6 |
| 8 | M8 | V2IF333 | 3 | 4 | 4 | 5 | 5 | 5 |
| 8 | M9 | V1PM2302 | 4 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 8 | M10 | V1IF251 | 5 | 4 | 5 | 5 | 6 | 5 |

ANEXO 2: Análisis de varianza y comparación de medias para los tratamientos.

Tabla 22: Análisis de varianza para tratamientos de microondas.

| | Df | Df Sum Sq Mean Sq | | F value | Pr(>F) | |
|----------------|----|-------------------|---------|---------|----------|---------------|
| | | Sum Sq | Mean Sq | | | |
| `Tratamiento | | | | | | |
| PM` | 2 | 10.736 | 10.736 | 32.33 | 2.68E-05 | *** |
| Residuals | 17 | 5.646 | 0.332 | | | |
| Signif. codes: | 0 | '***' | 0.001 | '**' | 0.01 | '*' 0.05 |
| | | | | | | '.' 0.1 ' ' 1 |

Tabla 23: Test de Tukey para comparación de medias de tratamientos por microondas.

TUKEY TEST TO COMPARE MEANS

Confidence level: 0.95
 Dependent variable: g(lup)/100g(tarwi)
 Variation Coefficient: 22.24106 %

Independent variable: Tratamiento PM

| Factors | Means | |
|---------|------------|----|
| 0 | 4.2 | a |
| 1 | 3.36087595 | ab |
| 2 | 2.41718782 | bc |
| 3 | 1.72720406 | c |

Tabla 24: Análisis de varianza para tratamientos de ultrasonidos.

| | Df | Df Sum Sq Mean Sq | | F value | Pr(>F) | |
|----------------|----|-------------------|---------|---------|----------|---------------|
| | | Sum Sq | Mean Sq | | | |
| `Tratamiento | | | | | | |
| US` | 2 | 0.400 | 0.3999 | 0.826 | 3.77E-01 | |
| Residuals | 16 | 5.646 | 0.332 | | | |
| Signif. codes: | 0 | '***' | 0.001 | '**' | 0.01 | '*' 0.05 |
| | | | | | | '.' 0.1 ' ' 1 |

Tabla 25: Test de Tukey para comparación de medias de tratamientos por ultrasonidos.

TUKEY TEST TO COMPARE MEANS

Confidence level: 0.95
 Dependent variable: g(lup)/100g(tarwi)
 Variation Coefficient: 25.59819 %

Independent variable: Tratamiento US

| Factors | Means |
|---------|---------------------|
| 1 | 3.19784155963389 a |
| 3 | 2.83273735441731 ab |
| 2 | 2.12627060084015 b |

Tabla 26: Análisis de varianza para la difusividad efectiva con tratamientos de microondas.

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-----------|----|-----------|-----------|---------|----------|
| trat | 2 | 1.007e-16 | 1.007e-16 | 7.728 | 0.0179 * |
| Residuals | 11 | 1.433e-16 | 1.303e-17 | | |

 Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Tabla 27: Test de Tukey para comparación de medias de tratamientos por microondas en la difusividad efectiva.

TUKEY TEST TO COMPARE MEANS

Confidence level: 0.95
 Dependent variable: Deff (m2/s)
 Variation Coefficient: 69.95563 %

Independent variable: trat

| Factors | Means |
|---------|-------------------------|
| 3 | 8.11995151168151e-09 a |
| 2 | 3.27470981824311e-09 ab |
| 1 | 9.88810228792615e-10 b |

Tabla 28: Análisis de varianza para la difusividad efectiva con tratamientos de ultrasonido.

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-----------|----|-----------|-----------|---------|--------|
| trat | 2 | 1.719e-18 | 1.719e-18 | 0.819 | 0.396 |
| Residuals | 7 | 1.470e-17 | 2.100e-18 | | |

Tabla 29: Test de Tukey para comparación de medias de tratamientos por ultrasonido en la difusividad efectiva.

TUKEY TEST TO COMPARE MEANS

Confidence level: 0.95

Dependent variable: Deff (m2/s)

Variation Coefficient: 94.30614 %

Independent variable: trat

| Factors | Means |
|---------|------------------------|
| 2 | 2.09355099587832e-09 a |
| 3 | 1.793301093242e-09 a |
| 1 | 7.22845032411736e-10 a |

Tukey multiple comparisons of means

95% family-wise confidence level

Fit: aov(formula = `Deff (m2/s)` ~ Tratamiento,
data = mediaus)

\$Tratamiento

| | diff | lwr | upr | p | adj |
|-----------------|---------------|-----|-----|-----|-----|
| V1IF130-V1IF115 | -1.004426e-09 | NaN | NaN | NaN | |
| V1IF19-V1IF115 | -1.168952e-09 | NaN | NaN | NaN | |
| V1IF215-V1IF115 | -4.963391e-10 | NaN | NaN | NaN | |
| V1IF230-V1IF115 | -4.127391e-10 | NaN | NaN | NaN | |
| V1IF29-V1IF115 | 2.847818e-09 | NaN | NaN | NaN | |
| V1IF315-V1IF115 | 2.167165e-09 | NaN | NaN | NaN | |
| V1IF330-V1IF115 | -9.202902e-10 | NaN | NaN | NaN | |
| V1IF39-V1IF115 | -2.088843e-10 | NaN | NaN | NaN | |
| V1IF19-V1IF130 | -1.645256e-10 | NaN | NaN | NaN | |
| V1IF215-V1IF130 | 5.080869e-10 | NaN | NaN | NaN | |
| V1IF230-V1IF130 | 5.916869e-10 | NaN | NaN | NaN | |
| V1IF29-V1IF130 | 3.852245e-09 | NaN | NaN | NaN | |
| V1IF315-V1IF130 | 3.171591e-09 | NaN | NaN | NaN | |
| V1IF330-V1IF130 | 8.413587e-11 | NaN | NaN | NaN | |

«continuación»

| | | | | |
|-----------------|---------------|-----|-----|-----|
| V1IF39-V1IF130 | 7.955417e-10 | NaN | NaN | NaN |
| V1IF215-V1IF19 | 6.726125e-10 | NaN | NaN | NaN |
| V1IF230-V1IF19 | 7.562125e-10 | NaN | NaN | NaN |
| V1IF29-V1IF19 | 4.016770e-09 | NaN | NaN | NaN |
| V1IF315-V1IF19 | 3.336117e-09 | NaN | NaN | NaN |
| V1IF330-V1IF19 | 2.486614e-10 | NaN | NaN | NaN |
| V1IF39-V1IF19 | 9.600673e-10 | NaN | NaN | NaN |
| V1IF230-V1IF215 | 8.360005e-11 | NaN | NaN | NaN |
| V1IF29-V1IF215 | 3.344158e-09 | NaN | NaN | NaN |
| V1IF315-V1IF215 | 2.663504e-09 | NaN | NaN | NaN |
| V1IF330-V1IF215 | -4.239510e-10 | NaN | NaN | NaN |
| V1IF39-V1IF215 | 2.874548e-10 | NaN | NaN | NaN |
| V1IF29-V1IF230 | 3.260558e-09 | NaN | NaN | NaN |
| V1IF315-V1IF230 | 2.579904e-09 | NaN | NaN | NaN |
| V1IF330-V1IF230 | -5.075511e-10 | NaN | NaN | NaN |
| V1IF39-V1IF230 | 2.038547e-10 | NaN | NaN | NaN |
| V1IF315-V1IF29 | -6.806534e-10 | NaN | NaN | NaN |
| V1IF330-V1IF29 | -3.768109e-09 | NaN | NaN | NaN |
| V1IF39-V1IF29 | -3.056703e-09 | NaN | NaN | NaN |
| V1IF330-V1IF315 | -3.087455e-09 | NaN | NaN | NaN |
| V1IF39-V1IF315 | -2.376049e-09 | NaN | NaN | NaN |
| V1IF39-V1IF330 | 7.114058e-10 | NaN | NaN | NaN |

Tabla 30: a) Análisis de varianza y Comparación múltiple Tukey para la Deff. de ecotipos, b) ANVA y comparación de Tukey para el contenido de lupanina por ecotipos.

a)

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-----------|----|--------|---------|---------|--------|
| trat | 1 | 199.9 | 199.9 | 0.895 | 0.381 |
| Residuals | 6 | 1339.6 | 223.3 | | |

Tukey multiple comparisons of means
95% family-wise confidence level

Fit: aov(formula = `Deff x 10⁻⁹ (m²/s)` ~
Tratamiento, data = ecotipo)

\$Tratamiento

| | diff | lwr | upr | p adj |
|----------------|--------|-----|-----|-------|
| V1IF115-V1 PM1 | 0.458 | NaN | NaN | NaN |
| V1IF215-V1 PM1 | -0.038 | NaN | NaN | NaN |

«continuación»

| | | | | |
|-------------------|---------|-----|-----|-----|
| V1PM0-V1 PM1 | 32.111 | NaN | NaN | NaN |
| V2IF1152-V1 PM1 | 3.181 | NaN | NaN | NaN |
| V2IF2151-V1 PM1 | -0.414 | NaN | NaN | NaN |
| V2PM0-V1 PM1 | 32.511 | NaN | NaN | NaN |
| V2PM115-V1 PM1 | -0.886 | NaN | NaN | NaN |
| V1IF215-V1IF115 | -0.496 | NaN | NaN | NaN |
| V1PM0-V1IF115 | 31.653 | NaN | NaN | NaN |
| V2IF1152-V1IF115 | 2.723 | NaN | NaN | NaN |
| V2IF2151-V1IF115 | -0.872 | NaN | NaN | NaN |
| V2PM0-V1IF115 | 32.053 | NaN | NaN | NaN |
| V2PM115-V1IF115 | -1.344 | NaN | NaN | NaN |
| V1PM0-V1IF215 | 32.149 | NaN | NaN | NaN |
| V2IF1152-V1IF215 | 3.219 | NaN | NaN | NaN |
| V2IF2151-V1IF215 | -0.376 | NaN | NaN | NaN |
| V2PM0-V1IF215 | 32.549 | NaN | NaN | NaN |
| V2PM115-V1IF215 | -0.848 | NaN | NaN | NaN |
| V2IF1152-V1PM0 | -28.930 | NaN | NaN | NaN |
| V2IF2151-V1PM0 | -32.525 | NaN | NaN | NaN |
| V2PM0-V1PM0 | 0.400 | NaN | NaN | NaN |
| V2PM115-V1PM0 | -32.997 | NaN | NaN | NaN |
| V2IF2151-V2IF1152 | -3.595 | NaN | NaN | NaN |
| V2PM0-V2IF1152 | 29.330 | NaN | NaN | NaN |
| V2PM115-V2IF1152 | -4.067 | NaN | NaN | NaN |
| V2PM0-V2IF2151 | 32.925 | NaN | NaN | NaN |
| V2PM115-V2IF2151 | -0.472 | NaN | NaN | NaN |
| V2PM115-V2PM0 | -33.397 | NaN | NaN | NaN |

b)

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-----------|----|--------|---------|---------|--------|
| trat | 1 | 0.323 | 0.3234 | 0.365 | 0.568 |
| Residuals | 6 | 5.309 | 0.8848 | | . |

Tukey multiple comparisons of means
95% family-wise confidence level

Fit: aov(formula = `g(lup)/100g(tarwi)` ~ Tratamiento, data = ecod)

| \$Tratamiento | | | | | |
|-----------------|--------|-----|-----|-----|-----|
| | diff | lwr | upr | p | adj |
| V1IF115-V1 PM1 | -0.416 | NaN | NaN | NaN | |
| V1IF215-V1 PM1 | -0.230 | NaN | NaN | NaN | |
| V1PM0-V1 PM1 | 1.341 | NaN | NaN | NaN | |
| V2IF1152-V1 PM1 | -1.170 | NaN | NaN | NaN | |
| V2IF2151-V1 PM1 | 0.557 | NaN | NaN | NaN | |
| V2PM0-V1 PM1 | 1.511 | NaN | NaN | NaN | |
| V2PM115-V1 PM1 | 0.326 | NaN | NaN | NaN | |

«continuación»

| | | | | |
|-------------------|--------|-----|-----|-----|
| V1IF215-V1IF115 | 0.186 | NaN | NaN | NaN |
| V1PM0-V1IF115 | 1.757 | NaN | NaN | NaN |
| V2IF1152-V1IF115 | -0.754 | NaN | NaN | NaN |
| V2IF2151-V1IF115 | 0.973 | NaN | NaN | NaN |
| V2PM0-V1IF115 | 1.927 | NaN | NaN | NaN |
| V2PM115-V1IF115 | 0.742 | NaN | NaN | NaN |
| V1PM0-V1IF215 | 1.571 | NaN | NaN | NaN |
| V2IF1152-V1IF215 | -0.940 | NaN | NaN | NaN |
| V2IF2151-V1IF215 | 0.787 | NaN | NaN | NaN |
| V2PM0-V1IF215 | 1.741 | NaN | NaN | NaN |
| V2PM115-V1IF215 | 0.556 | NaN | NaN | NaN |
| V2IF1152-V1PM0 | -2.511 | NaN | NaN | NaN |
| V2IF2151-V1PM0 | -0.784 | NaN | NaN | NaN |
| V2PM0-V1PM0 | 0.170 | NaN | NaN | NaN |
| V2PM115-V1PM0 | -1.015 | NaN | NaN | NaN |
| V2IF2151-V2IF1152 | 1.727 | NaN | NaN | NaN |
| V2PM0-V2IF1152 | 2.681 | NaN | NaN | NaN |
| V2PM115-V2IF1152 | 1.496 | NaN | NaN | NaN |
| V2PM0-V2IF2151 | 0.954 | NaN | NaN | NaN |
| V2PM115-V2IF2151 | -0.231 | NaN | NaN | NaN |
| V2PM115-V2PM0 | -1.185 | NaN | NaN | NaN |

Tabla 31: Análisis de varianza y comparación múltiple de Tukey entre la Deff. de métodos para desamargado convencional.

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-----------|----|--------|---------|---------|--------|
| trat | 5 | 21.27 | 21.265 | 3.501 | 0.135 |
| Residuals | 4 | 24.30 | 6.074 | | |

**Tukey multiple comparisons of means
95% family-wise confidence level**

Fit: aov(formula = `Deff x10⁻¹¹ (m²/s)` ~
fuente, data = metC)

| \$fuente | diff | lwr | upr | p adj |
|----------------------|---------|-----|-----|-------|
| G 2016-C 2014 | -6.5960 | NaN | NaN | NaN |
| MF v 2020a-C 2014 | -7.1300 | NaN | NaN | NaN |
| v 2020a-C 2014 | -7.6420 | NaN | NaN | NaN |
| v1 c 2020-C 2014 | -7.6271 | NaN | NaN | NaN |
| v2 c 2020-C 2014 | -7.6274 | NaN | NaN | NaN |
| MF v 2020a-G 2016 | -0.5340 | NaN | NaN | NaN |
| v 2020a-G 2016 | -1.0460 | NaN | NaN | NaN |
| v1 c 2020-G 2016 | -1.0311 | NaN | NaN | NaN |
| v2 c 2020-G 2016 | -1.0314 | NaN | NaN | NaN |
| v 2020a-MF v 2020a | -0.5120 | NaN | NaN | NaN |
| v1 c 2020-MF v 2020a | -0.4971 | NaN | NaN | NaN |
| v2 c 2020-MF v 2020a | -0.4974 | NaN | NaN | NaN |
| v1 c 2020-v 2020a | 0.0149 | NaN | NaN | NaN |

«continuación»

| | | | | |
|---------------------|---------|-----|-----|-----|
| V2 C 2020-v 2020a | 0.0146 | NaN | NaN | NaN |
| V2 C 2020-v1 C 2020 | -0.0003 | NaN | NaN | NaN |

Tabla 32: Comparación múltiple de Tukey para Deff. entre metodologías de extracción convencional, ultrasonido y microondas.

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-------------------------------|----|----------|----------|---------|--------|
| `Deff *10 ⁻⁹ m2/s` | 2 | 17133800 | 17133800 | 0.958 | 0.507 |
| Residuals | 1 | 17888554 | 17888554 | | |

Tukey multiple comparisons of means
95% family-wise confidence level

Fit: aov(formula = `Deff *10⁻⁹ m2/s` ~
Metodo, data = Dmet)

| \$Metodo | diff | lwr | upr | p adj |
|------------------|----------|-----|-----|-------|
| MAE-CONVENCIONAL | 8.11307 | NaN | NaN | NaN |
| UAE-CONVENCIONAL | 2.08707 | NaN | NaN | NaN |
| UAE-MAE | -6.02600 | NaN | NaN | NaN |

MAE: Siglas en inglés de la extracción asistida con microondas.

UAE: Siglas en inglés de la extracción asistida con ultrasonidos.

COMPARACIÓN DE MEDIAS DE TUKEY DEL TIEMPO ENTRE LOS METODOS DE EXTRACCIÓN

Tabla 33: Análisis de varianza y comparación de medias de Tukey entre tiempos, difusividad efectiva y contenido de lupanina extraído.

a)

```

`TIEMPO (min)`  Df    Sum Sq   Mean Sq  F value Pr(>F)
Residuals      1 1.200e-07 1.200e-07
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

b)

Tukey multiple comparisons of means
95% family-wise confidence level

Fit: aov(formula = `TIEMPO (min)` ~ Metodo,
data = TEAQ)

| \$Metodo | | diff | lwr | upr | p adj |
|------------------|------------|------|-----|-----|-------|
| EAU-CONVENCIONAL | -7017.5595 | NaN | NaN | NaN | |
| MAE-CONVENCIONAL | -7197.4920 | NaN | NaN | NaN | |
| MAE-EAU | -179.9326 | NaN | NaN | NaN | |

MAE: Siglas en inglés de la extracción asistida con microondas.

UAE: Siglas en inglés de la extracción asistida con ultrasonidos.

ANÁLISIS SENSORIAL DEL TARWI

Tabla 34: Análisis de varianza para jueces.

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-----------|----|--------|---------|---------|--------|
| Juez | 7 | 4.3 | 4.301 | 0.313 | 0.578 |
| Residuals | 78 | 1072.1 | 13.745 | | |

Tabla 35: Comparación de Tukey entre jueces.

TUKEY TEST TO COMPARE MEANS

Confidence level: 0.95

Dependent variable: Puntaje

Variation Coefficient: 12.82278 %

Independent variable: Juez

| Factors | Means | |
|---------|-------|---|
| 3 | 31.3 | a |
| 4 | 29.7 | a |
| 5 | 29.4 | a |
| 7 | 29.2 | a |
| 8 | 28.9 | a |
| 6 | 28 | a |
| 1 | 27.8 | a |
| 2 | 27 | a |

Tabla 36: Análisis de varianza para evaluar la dureza.

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-----------|----|--------|---------|---------|------------|
| muestra | 9 | 102.1 | 11.343 | 3.434 | 0.00233 ** |
| Residuals | 50 | 165.2 | 3.303 | | |

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Tabla 37: Test de rangos múltiples de Duncan para la dureza.

Duncan's new multiple range test
for dureza

Mean Square Error: 3.303333

muestra, means

| | dureza | std r | Min | Max |
|-----|----------|-----------|-----|-----|
| M1 | 6.666667 | 0.8164966 | 6 | 5 7 |
| M10 | 3.833333 | 1.7224014 | 6 | 2 6 |
| M2 | 6.833333 | 0.4082483 | 6 | 6 7 |
| M3 | 3.166667 | 1.8348479 | 6 | 2 6 |
| M4 | 5.833333 | 1.9407902 | 6 | 2 7 |
| M5 | 3.833333 | 2.4013885 | 6 | 1 6 |
| M6 | 3.166667 | 2.0412415 | 6 | 1 7 |
| M7 | 4.666667 | 2.3380904 | 6 | 2 7 |
| M8 | 5.500000 | 1.3784049 | 6 | 3 7 |
| M9 | 4.000000 | 2.1908902 | 6 | 1 7 |

Alpha: 0.05 ; DF Error: 50

Critical Range

| | | | |
|---|----------|----------|----------|
| | 2 | 3 | 4 |
| 5 | 6 | 7 | 8 |
| 9 | 10 | | |
| | 2.107658 | 2.216773 | 2.288518 |
| | 2.340524 | 2.380443 | 2.412263 |
| | 2.438314 | 2.460068 | 2.478514 |

Means with the same letter are not significantly different.

| | dureza | groups |
|-----|----------|--------|
| M2 | 6.833333 | a |
| M1 | 6.666667 | a |
| M4 | 5.833333 | ab |
| M8 | 5.500000 | abc |
| M7 | 4.666667 | abc |
| M9 | 4.000000 | bc |
| M10 | 3.833333 | bc |
| M5 | 3.833333 | bc |
| M3 | 3.166667 | c |
| M6 | 3.166667 | c |

Tabla 38: Análisis de varianza para evaluar la fracturabilidad.

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-----------|----|--------|---------|---------|--------|
| muestra | 9 | 17.15 | 1.906 | 0.507 | 0.862 |
| Residuals | 50 | 187.83 | 3.757 | | |

Tabla 39: Test de rangos múltiples de Duncan para la fracturabilidad.

Duncan's new multiple range test
for Fracturabilidad

Mean Square Error: 3.756667

muestra, means

| | Fracturabilidad | std | r | Min | Max |
|-----|-----------------|----------|---|-----|-----|
| M1 | 5.500000 | 1.870829 | 6 | 2 | 7 |
| M10 | 4.666667 | 1.505545 | 6 | 2 | 6 |
| M2 | 5.666667 | 2.338090 | 6 | 1 | 7 |
| M3 | 5.000000 | 1.549193 | 6 | 2 | 6 |
| M4 | 5.333333 | 1.966384 | 6 | 2 | 7 |
| M5 | 5.000000 | 1.897367 | 6 | 3 | 7 |
| M6 | 5.166667 | 2.041241 | 6 | 1 | 6 |
| M7 | 3.666667 | 1.861899 | 6 | 2 | 6 |
| M8 | 4.666667 | 2.065591 | 6 | 2 | 6 |
| M9 | 5.166667 | 2.136976 | 6 | 1 | 7 |

Alpha: 0.05 ; DF Error: 50

Critical Range

| | | | | | |
|----------|----------|----------|----------|----------|---|
| | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 7 | 8 | 9 | 10 | | |
| 2.247633 | 2.363994 | 2.440504 | 2.495964 | 2.538534 | |
| 2.572467 | 2.600247 | 2.623447 | 2.643118 | | |

Means with the same letter are not significantly different.

| Fracturabilidad groups | | |
|------------------------|----------|---|
| M2 | 5.666667 | a |
| M1 | 5.500000 | a |
| M4 | 5.333333 | a |
| M6 | 5.166667 | a |
| M9 | 5.166667 | a |
| M3 | 5.000000 | a |

«continuación»

| | | |
|-----|----------|---|
| M5 | 5.000000 | a |
| M10 | 4.666667 | a |
| M8 | 4.666667 | a |
| M7 | 3.666667 | a |

Tabla 40: Análisis de varianza para evaluar la calidad geométrica-lisa.

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-----------|----|--------|---------|---------|--------------|
| muestra | 9 | 99.48 | 11.05 | 7.952 | 3.52e-07 *** |
| Residuals | 50 | 69.50 | 1.39 | | |

 Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Tabla 41: Test de rangos múltiples de Duncan para la calidad geométrica-lisa.

Duncan's new multiple range test
for lisa

Mean Square Error: 1.39

muestra, means

| | lisa | std r | Min | Max |
|-----|----------|-----------|-----|-----|
| M1 | 6.833333 | 0.4082483 | 6 | 7 |
| M10 | 4.166667 | 1.7224014 | 6 | 6 |
| M2 | 6.666667 | 0.5163978 | 6 | 7 |
| M3 | 3.666667 | 1.6329932 | 6 | 6 |
| M4 | 3.333333 | 1.2110601 | 6 | 5 |
| M5 | 3.500000 | 1.0488088 | 6 | 5 |
| M6 | 3.833333 | 0.9831921 | 6 | 5 |
| M7 | 3.333333 | 1.3662601 | 6 | 5 |
| M8 | 3.166667 | 1.3291601 | 6 | 5 |
| M9 | 4.666667 | 0.8164966 | 6 | 6 |

Alpha: 0.05 ; DF Error: 50

Critical Range

| | | | |
|----------|----------|----------|---|
| | 2 | 3 | 4 |
| 5 | | | |
| 6 | | | |
| 7 | | | |
| 8 | | | |
| 9 | | | |
| 10 | | | |
| 1.367198 | 1.437979 | 1.484518 | |
| 1.518254 | 1.544148 | 1.564789 | |
| 1.581688 | 1.595799 | 1.607765 | |

«continuación»

Means with the same letter are not significantly different.

| lisa groups | | |
|-------------|----------|---|
| M1 | 6.833333 | a |
| M2 | 6.666667 | a |
| M9 | 4.666667 | b |
| M10 | 4.166667 | b |
| M6 | 3.833333 | b |
| M3 | 3.666667 | b |
| M5 | 3.500000 | b |
| M4 | 3.333333 | b |
| M7 | 3.333333 | b |
| M8 | 3.166667 | b |

Tabla 42: Análisis de varianza para evaluar la calidad geométrica-rugosa.

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|---|----|--------|---------|---------|------------|
| muestra | 9 | 52.15 | 5.794 | 3.389 | 0.00258 ** |
| Residuals | 50 | 85.50 | 1.710 | | |
| --- | | | | | |
| Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1 | | | | | |

Tabla 43: Test de rangos múltiples de Duncan para la calidad geométrica-rugosa.

Duncan's new multiple range test
for rugosa

Mean Square Error: 1.71

muestra, means

| | rugosa | std | r | Min | Max |
|-----|----------|-----------|---|-----|-----|
| M1 | 3.166667 | 1.3291601 | 6 | 1 | 4 |
| M10 | 5.833333 | 0.7527727 | 6 | 5 | 7 |
| M2 | 3.333333 | 0.8164966 | 6 | 2 | 4 |
| M3 | 4.500000 | 1.8708287 | 6 | 1 | 6 |
| M4 | 5.166667 | 1.1690452 | 6 | 3 | 6 |
| M5 | 5.833333 | 0.7527727 | 6 | 5 | 7 |
| M6 | 5.000000 | 1.6733201 | 6 | 3 | 7 |
| M7 | 4.666667 | 1.7511901 | 6 | 2 | 6 |
| M8 | 6.000000 | 0.6324555 | 6 | 5 | 7 |
| M9 | 5.000000 | 1.5491933 | 6 | 2 | 6 |

«continuación»

Alpha: 0.05 ; DF Error: 50

Critical Range

| 2 | 3 | 4 | 5 |
|----------|----------|----------|----------|
| 6 | 7 | 8 | 9 |
| 1.516429 | 1.594935 | 1.646555 | 1.683973 |
| 1.712694 | 1.735588 | 1.754330 | 1.769982 |
| 1.783254 | | | |

Means with the same letter are not significantly different.

| rugosa groups | | |
|---------------|----------|-----|
| M8 | 6.000000 | a |
| M10 | 5.833333 | a |
| M5 | 5.833333 | a |
| M4 | 5.166667 | a |
| M6 | 5.000000 | ab |
| M9 | 5.000000 | ab |
| M7 | 4.666667 | abc |
| M3 | 4.500000 | abc |
| M2 | 3.333333 | bc |
| M1 | 3.166667 | c |

Tabla 44: Análisis de varianza para evaluar la grasa.

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|-----------|----|--------|---------|---------|--------|
| muestra | 9 | 4.48 | 0.4981 | 0.766 | 0.647 |
| Residuals | 50 | 32.50 | 0.6500 | | |

Tabla 45: Test de rangos múltiples de Duncan para la grasa.

Duncan's new multiple range test
for grasa

Mean Square Error: 0.65

muestra, means

| | grasa | std r | Min | Max |
|-----|----------|-----------|-----|-----|
| M1 | 6.333333 | 1.0327956 | 6 | 5 7 |
| M10 | 6.166667 | 0.7527727 | 6 | 5 7 |
| M2 | 5.833333 | 0.7527727 | 6 | 5 7 |

«continuación»

| | | | | | |
|----|----------|-----------|---|---|---|
| M3 | 5.666667 | 0.5163978 | 6 | 5 | 6 |
| M4 | 5.500000 | 0.5477226 | 6 | 5 | 6 |
| M5 | 5.500000 | 1.0488088 | 6 | 4 | 7 |
| M6 | 5.833333 | 0.7527727 | 6 | 5 | 7 |
| M7 | 5.500000 | 0.8366600 | 6 | 4 | 6 |
| M8 | 6.000000 | 0.8944272 | 6 | 5 | 7 |
| M9 | 5.833333 | 0.7527727 | 6 | 5 | 7 |

Alpha: 0.05 ; DF Error: 50

Critical Range

| | | | | |
|---|---|---|---|-----------|
| | 2 | 3 | 4 | |
| 5 | 6 | 7 | 8 | |
| 9 | | | | |
| | | | | 10 |
| | | | | 1.0994408 |

Means with the same letter are not significantly different.

| grasa groups | | |
|--------------|----------|---|
| M1 | 6.333333 | a |
| M10 | 6.166667 | a |
| M8 | 6.000000 | a |
| M2 | 5.833333 | a |
| M6 | 5.833333 | a |
| M9 | 5.833333 | a |
| M3 | 5.666667 | a |
| M4 | 5.500000 | a |
| M5 | 5.500000 | a |
| M7 | 5.500000 | a |

Tabla 46: Análisis de varianza para evaluar la sensación residual-fácil de romper.

| | Df | Sum Sq | Mean Sq | F value | Pr(>F) |
|---|----|--------|---------|---------|------------|
| muestra | 9 | 82.48 | 9.165 | 3.341 | 0.00287 ** |
| Residuals | 50 | 137.17 | 2.743 | | |
| --- | | | | | |
| Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1 | | | | | |

Tabla 47: Test de rangos múltiples de Duncan para sensación residual-fácil de romper.

Duncan's new multiple range test
for facil de romper

Mean Square Error: 2.743333

muestra, means

| | facil.de.romper | std | r | Min | Max |
|-----|-----------------|-----------|---|-----|-----|
| M1 | 1.666667 | 0.8164966 | 6 | 1 | 3 |
| M10 | 5.333333 | 1.8618987 | 6 | 2 | 7 |
| M2 | 3.333333 | 2.4221203 | 6 | 1 | 7 |
| M3 | 3.333333 | 1.2110601 | 6 | 2 | 5 |
| M4 | 5.166667 | 1.3291601 | 6 | 3 | 7 |
| M5 | 4.666667 | 1.8618987 | 6 | 2 | 7 |
| M6 | 5.000000 | 1.5491933 | 6 | 3 | 6 |
| M7 | 3.500000 | 1.6431677 | 6 | 2 | 6 |
| M8 | 3.833333 | 1.8348479 | 6 | 2 | 6 |
| M9 | 5.666667 | 1.5055453 | 6 | 3 | 7 |

Alpha: 0.05 ; DF Error: 50

Critical Range

| | | | | | |
|---|----------|----------|----------|----------|----------|
| | 2 | 3 | 4 | 5 | 10 |
| 6 | 1.920717 | 2.020153 | 2.085535 | 2.132928 | |
| 7 | 2.169307 | 2.198304 | 2.222044 | 2.241869 | |
| 8 | | | | | 2.258679 |

Means with the same letter are not significantly different.

| | facil de romper | groups |
|-----|-----------------|--------|
| M9 | 5.666667 | a |
| M10 | 5.333333 | ab |
| M4 | 5.166667 | ab |
| M6 | 5.000000 | ab |
| M5 | 4.666667 | ab |
| M8 | 3.833333 | ab |
| M7 | 3.500000 | abc |
| M2 | 3.333333 | bc |
| M3 | 3.333333 | bc |
| M1 | 1.666667 | c |

UNW