



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE JULIACA
FACULTAD DE INGENIERÍA DE PROCESOS
INDUSTRIALES**

**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN
INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**



**“DESARROLLO DE UN MÉTODO NO INVASIVO POR
ESPECTROSCOPIA DIELECTRICA DE MICROONDAS PARA
LA CUANTIFICACIÓN DE LUPANINA EN DIFERENTES
MATRICES DE *Lupinus mutabilis* (TARWI) EMPLEANDO
UHPLC ACOPLADO A UN ESPECTROFOTÓMETRO
MASA/MASA”**

Luis Renzo Baylor Hidalgo

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

Asesor (a): Dr. Sc. Olivia Magaly Luque Vilca

Co-asesor: M. Sc. José Manuel Prieto



Juliaca , 2021



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE JULIACA
FACULTAD DE INGENIERÍA DE PROCESOS
INDUSTRIALES**

**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN
INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**



**“DESARROLLO DE UN MÉTODO NO INVASIVO POR
ESPECTROSCOPIA DIELECTRICA DE MICROONDAS PARA
LA CUANTIFICACIÓN DE LUPANINA EN DIFERENTES
MATRICES DE *Lupinus mutabilis* (TARWI) EMPLEANDO
UHPLC ACOPLADO A UN ESPECTROFOTÓMETRO
MASA/MASA”**

Luis Renzo Baylor Hidalgo

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

Asesor (a): Dr. Sc. Olivia Magaly Luque Vilca

Co-asesor: M. Sc. José Manuel Prieto



Juliaca , 2021

UNIVERSIDAD NACIONAL DE JULIACA
FACULTAD DE INGENIERÍA DE PROCESOS
INDUSTRIALES
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA
EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS



**“DESARROLLO DE UN MÉTODO NO INVASIVO POR
ESPECTROSCOPIA DIELECTRICA DE MICROONDAS PARA
LA CUANTIFICACIÓN DE LUPANINA EN DIFERENTES
MATRICES DE *Lupinus mutabilis* (TARWI) EMPLEANDO
UHPLC ACOPLADO A UN ESPECTROFOTÓMETRO
MASA/MASA”**

Luis Renzo Baylor Hidalgo

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

Asesor(a): Dr.Sc. Olivia Magaly Luque Vilca

Co-asesor: M.Sc. José Manuel Prieto

Juliaca, 2021

FICHA CATALOGRÁFICA

Baylor, L. (2021). Desarrollo de un método no invasivo por espectroscopía dieléctrica de microondas para la cuantificación de lupanina en diferentes matrices de *Lupinus mutabilis* (tarwi) empleando UHPLC acoplado a un espectrofotómetro masa/masa. (Tesis de Ingeniería). Universidad Nacional de Juliaca. Juliaca.

AUTOR: Luis Renzo Baylor Hidalgo

TÍTULO: Desarrollo de un método no invasivo por espectroscopía dieléctrica de microondas para la cuantificación de lupanina en diferentes matrices de *Lupinus mutabilis* (tarwi) empleando UHPLC acoplado a un espectrofotómetro masa/masa.

PUBLICACIÓN: Juliaca, 2021

DESCRIPCIÓN: Cantidad de páginas (131pp)

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

CÓDIGO: 04-00009-04/B17

NOTA: Incluye bibliografía

ASESOR: Dr.Sc. Olivia Magaly Luque Vilca

CO-ASESOR: M.Sc. José Manuel Prieto

PALABRAS CLAVES:

Lupinus mutabilis, alcaloide quinolizidínico, lupanina, UHPLC, espectroscopía dieléctrica.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE JULIACA

FACULTAD DE INGENIERÍA DE PROCESOS
INDUSTRIALES

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN
INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

“DESARROLLO DE UN MÉTODO NO INVASIVO POR ESPECTROSCOPIA
DIELÉCTRICA DE MICROONDAS PARA LA CUANTIFICACIÓN
DE LUPANINA EN DIFERENTES MATRICES DE *Lupinus*
mutabilis (TARWI) EMPLEANDO UHPLC ACOPLADO
A UN ESPECTROFOTÓMETRO MASA/MASA”

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

Presentado por:

Luis Renzo Baylor Hidalgo

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Mg. Tania Jakeline Choque Rivera

PRESIDENTE DE JURADO



M.Sc. Lenin Quille Quille

JURADO (Secretario)


2° MIEMBRO

Dr.Sc. Rubén Wilfredo Jilapa Humpiri

JURADO (Vocal)


3° MIEMBRO



Dr.Sc. Olivia Magaly Luque Vilca

ASESOR DE TESIS



M.Sc. José Manuel Prieto

CO-ASESOR DE TESIS

DEDICATORIA

Este trabajo es dedicado en primer lugar a Dios, por haberme guiado y haberme permitido llegar hasta este momento tan importante de mi vida profesional, a mi hermano por cuidarme desde el cielo e iluminar mi camino, a mis docentes que me han brindado su apoyo durante los 5 años de mi carrera universitaria, a mis asesores por guiarme así como por ser mi ejemplo a seguir siendo el mejor, a mis amigos por estar conmigo en los momentos difíciles de mi vida y acompañarme, para terminar a mi familia por ser el pilar más importante y por demostrarme su amor y apoyo incondicional para no rendirme.

A la Universidad Nacional de Juliaca (UNAJ) por brindarme la confianza y el apoyo en el financiamiento del presente trabajo de investigación.

“Luis Renzo Baylor Hidalgo”

AGRADECIMIENTO

Primero agradecer a Dios, quien me ayuda y me cuida día a día, a cada integrante de mi familia, a la Universidad Nacional de Juliaca por haberme brindado su apoyo con el financiamiento con Resolución de Consejo de Comisión Organizadora N° 406-2019-CCO-UNAJ para la realización de esta tesis, a la Escuela profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias.

Agradecer a mis asesores, Dr.Sc. Olivia Magaly Luque Vilca, M.Sc. José Manuel Prieto y al Dr.Sc. Tony Chuquizuta de la Universidad Nacional Autónoma de Chota por brindarme la oportunidad de recurrir a sus capacidades, experiencia, por la confianza, orientación y el tiempo para realizar este trabajo de investigación. Asimismo, a los laboratoristas de la sede Ayabacas, Lic. Ernesto e Ing. Yimy por su disposición de tiempo y recomendaciones en la ejecución.

Expresar mi sincero agradecimiento a mis jurados: Mg. Tania Jakeline Choque Rivera, M.Sc Lenin Quille Quille, Dr.Sc. Ruben Wilfredo Jilapa Humpiri por la dedicación, coordinación y por la orientación para la realización y culminación del presente trabajo de investigación.

Agradezco, a mis padres por su apoyo, por ayudarme en todo lo que fuera necesario y por siempre, impulsarme a ser mejor cada día. Del mismo modo, agradecer a Erika quien es esa personita especial que me acompaña cada día y me brinda su apoyo incondicional y a mis tíos Analí y Juan por sus recomendaciones y palabras motivadoras.

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA.....	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
NOMENCLATURA.....	xvii
RESUMEN	xviii
ABSTRACT	xix
INTRODUCCIÓN.....	xx

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	1
1.2. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA.....	2
1.2.1. Objetivo general	2
1.2.2. Objetivos específicos.....	2
1.3. JUSTIFICACIÓN.....	3

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES	5
2.2. TARWI (<i>Lupinus mutabilis</i>).....	7
2.2.1. Origen y taxonomía de <i>Lupinus mutabilis</i>	8
2.2.2. <i>Lupinus mutabilis</i> en los andes.....	11
2.2.3. Composición química del grano y valor nutricional	12
2.3. ALCALOIDES	16
2.3.1. Alcaloides quinolizidínicos (QA).....	16
2.3.2. Toxicidad de los alcaloides.....	20
2.4. VARIEDADES.....	20

2.5. DESAMARGADO DEL TARWI	21
2.5.1. Desamargado tradicional	22
2.5.2. Tecnología de desamargado por microondas	22
2.5.3. Tecnología de desamargado por ultrasonido	23
2.6. MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN	26
2.6.1. Cromatografía.....	26
2.6.2. Titulación.....	27
2.7. ESPECTROSCOPIA DIELECTRICA DE MICROONDAS (MDS)	27
2.7.1. Espectroscopía dieléctrica de microondas en alimentos.....	30
2.8. REQUISITOS ESPECÍFICOS DEL TARWI	31
2.8.1. Norma técnica peruana (NTP).....	31
2.8.2. Norma técnica ecuatoriana	32

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN	33
3.1.1. Hipótesis general.	33
3.1.2. Hipótesis específicas.....	33
3.2. MATERIALES	34
3.2.1. Lugar de la ejecución.....	34
3.2.2. Materia prima.	34
3.2.3. Materiales de laboratorio.....	34
3.2.4. Reactivos e insumos.	35
3.2.5. Equipos.	35
3.3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	37
3.3.1. Validación del método no invasivo para el análisis de lupanina en el tarwi.	37

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. DETERMINACIÓN DE LOS ESPECTROS DIELECTRICOS A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE LA LUPANINA	44
4.1.1. Determinación de la curva de calibración de las propiedades dieléctricas.....	44
4.1.2. Obtención de los espectros dieléctricos a diferentes concentraciones de lupanina	47
4.2. VALIDACIÓN DEL MÉTODO NO INVASIVO DE CUANTIFICACIÓN DE LA LUPANINA EN DIFERENTES MATRICES POR ESPECTROSCOPIA DIELECTRICA DE MICROONDAS CON EL UHPLC.....	49
4.2.1. Determinación de la curva de calibración UHPLC	49
4.2.2. Cuantificación de la lupanina en los granos de tarwi por UHPLC.....	52
4.2.3. Cuantificación de la lupanina por espectroscopía dieléctrica de microondas (MDS)- Propiedades dieléctricas	54
4.2.4. Validación del método no invasivo	58

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES.....	59
5.2. RECOMENDACIONES	60
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61
ANEXOS	70

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1.</i> Distribución de los nombres comunes en Ecuador, Perú y Bolivia	7
<i>Figura 2.</i> Diagrama de las relaciones filogenéticas entre el lupino del viejo y nuevo mundo	9
<i>Figura 3.</i> Las cuatro principales especies de <i>Lupinus</i>	11
<i>Figura 4.</i> Estructura de la quinolizidina.....	18
<i>Figura 5.</i> Formula molecular de la lupanina	19
<i>Figura 6.</i> Formula molecular de la esparteína.....	19
<i>Figura 7.</i> Formula molecular de 13-hidroxilupanina.....	20
<i>Figura 8.</i> Posible mecanismo de difusión para EAU	25
<i>Figura 9.</i> Onda electromagnética (Castro Giráldez et al., 2010).....	28
<i>Figura 10.</i> Esquema del espectro electromagnético.....	29
<i>Figura 11.</i> Diseño experimental del método no invasivo.....	37
<i>Figura 12.</i> Hidratado de los granos de tarwi de maduración completa y homogénea.	38
<i>Figura 13.</i> Grano de tarwi congelado a -20 °C durante 2 días.....	39
<i>Figura 14.</i> Sistema de adquisición de permitividad relativa para grano de tawi, utilizando sonda coaxial de terminación abierta.....	42
<i>Figura 15.</i> R-square de la lupanina de las frecuencias 750 MHz y 5800 MHz	45
<i>Figura 16.</i> R-square de la lupanina de las frecuencias 915 MHz y 2450 MHz	45
<i>Figura 17.</i> Espectro dieléctrico de las concentraciones de lupanina. a) Constante dielectrica. b) Factor de perdidas.	48
<i>Figura 18.</i> Ubicación de la lupanina en el cromatograma.	50
<i>Figura 19.</i> R-square de la lupanina en UHPLC	51
<i>Figura 20.</i> Comparación de medias de los tratamientos en la cuantificación de lupanina por UHPLC	53

<i>Figura 21.</i> Espectro dieléctrico del tarwi con diferentes tratamientos de desamargado	55
<i>Figura 22.</i> Comparación de medias de los tratamientos en la cuantificación de lupanina por espectroscopía dieléctrica a 750 MHz.	57
<i>Figura 23.</i> Comparación de medias de los tratamientos en la cuantificación de lupanina por espectroscopía dieléctrica a 5800MHz	57
<i>Figura 24.</i> a) Semillas de tarwi sin seleccionar del ecotipo Yunguyo. b) Semillas de tarwi seleccionadas. del ecotipo Yunguyo.....	70
<i>Figura 25.</i> Patrón de lupanina	70
<i>Figura 26.</i> Pesado del patrón de lupanina.	71
<i>Figura 27.</i> Figura: Pesado del grano de tarwi.	71
<i>Figura 28.</i> Hidratado del grano de tarwi del ecotipo Yunguyo.....	72
<i>Figura 29.</i> Grano congelado ecotipo Yunguyo.	72
<i>Figura 30.</i> Líquido del grano de tarwi después del hidratado y congelado.....	73
<i>Figura 31.</i> Desamargado del grano de tarwi por ultra sonido a 40KHz-100W.....	73
<i>Figura 32.</i> Desamargado por microondas a 630W	74
<i>Figura 33.</i> Grano de tarwi desamargado por a) Ultrasonido, b) Microondas.	74
<i>Figura 34.</i> Líquido del grano de tarwi después del desamargado por ultrasonido y microondas	75
<i>Figura 35.</i> a) grano de tarwi sin deshidratar, b) grano de tarwi deshidratado.....	75
<i>Figura 36.</i> a) Grano de tarwi molido en mortero, b) Tamizado del grano de tarwi molido.	76
<i>Figura 37.</i> a) Tarwi molido y tamizado en viales, b) pesado del tarwi molido ytamizado.	76
<i>Figura 38.</i> Extracción de los alcaloides - preparación de la muestra para la extracción de los alcaloides -centrifugado.....	77

<i>Figura 39.</i> Extracción de alcaloides – preparación de la muestra para la extracción de los alcaloides – Elución en el rotavapor en fase líquida para el UHPLC.....	78
<i>Figura 40.</i> Preparación de la muestra para el UHPLC.	79
<i>Figura 41.</i> Filtro de membrana de 0.20 μm	80
<i>Figura 42.</i> Extracción de las burbujas de las muestras por el sonicador antes de entrar al UHPLC.	80
<i>Figura 43.</i> Equipo de UHPLC de la Escuela Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias – Sede Ayabacas-UNAJ.....	81
<i>Figura 44.</i> Calibración del Estándar de lupanina.	82
<i>Figura 45.</i> Presentación del Cromatograma del UHPLC. a) Cromatograma de las muestras de Tarwi amargo sin tratamiento, b) Cromatograma de muestras de tarwi hidratadas.....	83
<i>Figura 46.</i> Presentación del Cromatograma del UHPLC. a) Cromatograma de las muestras asistidas por ultrasonido, b) Cromatograma de muestras asistidas por microondas	84
<i>Figura 47.</i> Granos de Tarwi parcialmente deshidratados sellados al vacío.	85
<i>Figura 48.</i> Equipo dieléctrico analizador de redes vectoriales conectado a una sonda coaxial de terminación abierta-Universidad Nacional Autónoma de Chota.....	85
<i>Figura 49.</i> Secuencia de calibración del equipo dieléctrico analizador de redes vectoriales con el Standar de Lupanina de acuerdo a las concentraciones de trabajo	86
<i>Figura 50.</i> Muestras de tarwi en el laboratorio del Instituto de investigación del Mejoramiento productivo de la universidad Nacional Autónoma de Chota	87

<i>Figura 51.</i> Análisis del grano de tarwi parcialmente deshidratado. a) Sonda coaxial de terminación abierta con la muestra del grano de Tarwi, b) Obtención de los valores de los coeficientes de reflexión.....	87
<i>Figura 52.</i> Espectros dielectricos a diferentes concentraciones de lupanina.	88
<i>Figura 53.</i> Lugar de ejecución del trabajo de tesis – EPIIA sede Ayabacas, laboratorios de post cosecha y fisicoquímica.	89
<i>Figura 54.</i> Laboratorio de investigación – laboratorio de cromatografía líquida.	90

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición química de las principales especies de lupinos (g/Kg-1 promedio de datos mundiales).....	13
Tabla 2. Composición de ácidos grasos de semillas de lupinus en comparación con las semillas de soja.....	15
Tabla 3. Alcaloides quinolizidínicos en las principales especies de lupino (% en fracción alcaloide)	17
Tabla 4. Ecotipos y variedades más concurrentes del grano de tarwi (<i>L. mutabilis</i>)	21
Tabla 5. Requisitos físicos químicos del tarwi o chocho desamargado	31
Tabla 6. Composición química proximal del tarwi desamargado	32
Tabla 7. Programación de la gradiente para el UHPLC	41
Tabla 8. Calibración de las propiedades dieléctricas a diferentes concentraciones de lupanina	46
Tabla 9. Ecuaciones y correlaciones lineales en 750 y 5800 MHz para ϵ'' frente a la concentración de lupanina	47
Tabla 10. Datos de calibración con el estándar de la lupanina.....	51
Tabla 11. Cantidad de lupanina en el grano de tarwi en cada tratamiento.....	52
Tabla 12. Cantidad de lupanina en el grano de tarwi por Espectroscopía dieléctrica de microondas en cada tratamiento	56
Tabla 13. Validación por Chi cuadrado.....	58
Tabla 14. Calibración de las propiedades dieléctricas a 400 ppm.....	91
Tabla 15. Calibración de las propiedades dieléctricas a 300 ppm.....	92
Tabla 16. Calibración de las propiedades dieléctricas a 200 ppm.....	93
Tabla 17. Calibración de las propiedades dieléctricas a 100 ppm.....	94
Tabla 18. Calibración de las propiedades dieléctricas a 40 ppm.....	95

Tabla 19. Tratamiento de desamargado del grano de tarwi en la espectroscopía dieléctrica de microondas – TAH.....	96
Tabla 20. Tratamiento de desamargado del grano de tarwi en la espectroscopía dieléctrica de microondas – TDAM.....	98
Tabla 21. Tratamiento de desamargado del grano de tarwi en la espectroscopía dieléctrica de microondas – TDAM.....	100
Tabla 22. Cantidad de lupanina en el espectro dieléctrico de microondas en el tratamiento TAH	102
Tabla 23. Cantidad de lupanina en el espectro dieléctrico de microondas en el tratamiento TDAM	104
Tabla 24. Cantidad de lupanina en el espectro dieléctrico de microondas en el tratamiento TDAU	106
Tabla 25. Análisis de varianza para tratamientos de desamargado de los granos de tarwi por UHPLC	108
Tabla 26. Test de Tukey para comparación de medias de tratamientos de desamargado de los granos de tarwi por UHPLC	108
Tabla 27. Análisis de varianza para tratamientos de desamargado de los granos de tarwi por espectroscopía dieléctrica de microondas a una frecuencia de 750 MHz	109
Tabla 28. Test de Tukey para comparación de medias de tratamientos de desamargado de los granos de tarwi por espectroscopía dieléctrica de microondas a una frecuencia de 750 MHz	109
Tabla 29. Análisis de varianza para tratamientos de desamargado de los granos de tarwi por espectroscopía dieléctrica de microondas a una frecuencia de 5800 MHz	110

Tabla 30. Test de Tukey para comparación de medias de tratamientos de desamargado de los granos de tarwi por espectroscopía dieléctrica de microondas a una frecuencia de 5800 MHz	110
Tabla 31. Cuantificación de la lupanina en ambos métodos	111
Tabla 32. Resumen de los datos para la validación del método no invasivo de espectroscopía dieléctrica de microondas	111

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Panel fotográfico obtenido durante la ejecución de la investigación.....	70
Anexo 2: Resultados obtenidos en la espectroscopía dieléctrica de microondas	91
Anexo 3: Análisis de varianza y comparación de medias para los tratamientos	108
Anexo 4: Resumen de los datos de validación del método no invasivo	111

NOMENCLATURA

UHPLC	: Cromatografía de Líquidos de Ultra Alta Resolución
MDS	: Espectroscopía dieléctrica de microondas
DL	: Dieléctricas
EAM	: Extracción por microondas
EAU	: Extracción por ultrasonido
TAH	: Tarwi amargo hidratado
TDAM	: Tarwi desamargado asistido por microondas.
TDAU	: Tarwi desamargado asistido por ultrasonido
QA	: Alcaloides Quinolizidínico
(ϵ')	: Constante dieléctrica
(ϵ'')	: Factor de pérdida

RESUMEN

El tarwi (*Lupinus mutabilis*) es una leguminosa de gran interés por ser un alimento importante y cotidiano de la población andina por su alto contenido en proteínas y aceites. El grano requiere un tratamiento como es desamargado para su consumo porque contiene alcaloides tóxicos de quinolizidina (QA) que son sustancias anti nutricionales siendo la lupanina el alcaloide que más predomina. Para su análisis de cuantificación de alcaloides los métodos analíticos suelen ser muy agresivos e invasivos, siendo el HPLC el método más preciso, popular y costoso, por lo que se requiere nuevas metodologías de cuantificación no invasivas teniendo como alternativa la espectroscopía dieléctrica de microondas (MDS). El presente trabajo de investigación tiene como objetivo validar un método no invasivo de cuantificación de lupanina en granos de tarwi de un ecotipo. El ecotipo Yunguyo fue sometido a tres tipos de tratamientos de desamargado, hidratado por 24 horas, microondas a una potencia de 630 W por 9 minutos y ultrasonido a 40 kHz:100 W por 15 minutos. En el análisis del alcaloide se determinó primeramente los espectros dieléctricos con un patrón estándar de lupanina a diferentes concentraciones (40 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 300 pm, 400 ppm) obteniendo dos curvas de calibración óptimas en las frecuencias de 750 y 5800 MHz con un R^2 de 0.9633 y 0.8731 respectivamente, dentro de un rango de 0.5 a 9 GHz, así mismo, se calibró el equipo UHPLC obteniendo una relación lineal R^2 de 0.999, lográndose determinar la cantidad de lupanina presente en los granos de tarwi tratados. Se validó el método no invasivo de espectroscopía dieléctrica de microondas para la cuantificación de lupanina en diferentes tratamientos en la frecuencia de 750 MHz con un P.value < 0.05 teniendo una relación con la cuantificación de los tratamientos analizados por el equipo cromatográfico. Concluyendo que la metodología no invasiva por espectroscopía dieléctrica de microondas es adecuada para el análisis de lupanina en granos de tarwi, pero aún falta realizar estudios más profundos para poder optimizarlos.

Palabras Clave: *Lupinus mutabilis*, alcaloide quinolizidínico, lupanina, UHPLC, espectroscopía dieléctrica.

ABSTRACT

Tarwi (*Lupinus mutabilis*) is a legume of great interest because it is an important and daily food of the Andean population due to its high protein and oil content. The grain requires a debittering treatment for its consumption because it contains toxic quinolizidine alkaloids (QA), which are anti-nutritional substances, lupanine being the most predominant alkaloid. For its analysis of alkaloid quantification, analytical methods are usually very aggressive and invasive, being HPLC the most accurate, popular and expensive method, so new non-invasive quantification methodologies are required, having microwave dielectric spectroscopy (MDS) as an alternative. The present research work aims to validate a non-invasive method for the quantification of lupanine in tarwi grains of one ecotype. The Yunguyo ecotype was subjected to three types of debittering treatments, hydrated for 24 hours, microwaves at a power of 630 W for 9 minutes and ultrasound at 40 kHz: 100 W for 15 minutes. In the analysis of the alkaloid, the dielectric spectra were first determined with a standard pattern of lupanine at different concentrations (40 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm) obtaining two optimal calibration curves at frequencies of 750 and 5800 MHz with an R^2 of 0.9633 and 0.8731 respectively, within a range of 0.5 to 9 GHz, likewise, the UHPLC equipment was calibrated obtaining a linear R^2 of 0.999, thus determining the amount of lupanine present in the treated tarwi grains. The non-invasive method of microwave dielectric spectroscopy was validated for the quantification of lupanine in different treatments at the frequency of 750 MHz with a P.value < 0.05 having a relationship with the quantification of the treatments analyzed by the chromatographic equipment. It is concluded that the non-invasive methodology by microwave dielectric spectroscopy is adequate for the analysis of lupanine in tarwi grains, but further studies are still needed to optimize them.

Key words: *Lupinus mutabilis*, Quinolizidinyl alkaloid, Lupanine, UHPLC, Dielectric spectroscopy.

INTRODUCCIÓN

El tarwi (*Lupinus mutabilis*) cultivada tradicionalmente en los andes de Latinoamérica es la única especie del género *Lupinus* originaria de Sudamérica, esta leguminosa es de gran importancia por su alto contenido de proteínas y aceites así mismo siendo de interés como sustituto de la soja. El principal inconveniente que presenta esta leguminosa es el alto contenido de alcaloides quinolizidínicos a comparación de sus demás parientes como *L. albus*, *L. angustifolius* y *L. luteus*, y esto se debe a la alta cantidad de proteínas que contiene, de manera que requiere un tratamiento de desamargado para su consumo, a pesar de que existen estudios sobre mejoramiento de la técnica de desamargado convencional como de su composición y aprovechamiento de la legumbre, como también investigaciones sobre técnicas avanzadas para la extracción de compuestos bioactivos para mejorar la eficiencia de la extracción siguen quedando rastros de alcaloide, por lo tanto, es crucial desde el punto de vista de la seguridad alimentaria ya que su consumo en concentraciones elevadas puede causar intoxicaciones graves siendo la lupanina el alcaloide que se encuentra en mayores concentraciones dentro del grano aproximadamente el 70%, por lo que el análisis de la cuantificación del alcaloide es necesario, siendo por HPLC el método más preciso y confiable, sin embargo, este método es muy costoso, lento, y muy destructivo.

En la actualidad los análisis rápidos de los diferentes fenómenos relacionados con los alimentos en bajo costo y no invasivos o destructivos son una de las principales tecnologías de ingeniería que requieren las empresas puesto que la calidad e inocuidad de los alimentos tiene una creciente demanda más que todos los métodos analíticos siendo la espectroscopía dieléctrica una de las principales tecnologías analíticas no destructivas, ofreciendo resultados más exactos con respecto a dar explicaciones de las estructuras moleculares. El desarrollo de una nueva metodología no invasiva como la espectroscopía dieléctrica de microondas para el análisis de tarwi es necesario para la cuantificación de alcaloide y así mismo tener un control más confiable, económico, limpio y no invasivo.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

El presente proyecto de tesis nace de la observación realizada sobre el contenido de alcaloides en las semillas de *Lupinus* el cual inhibe las múltiples propiedades y usos que se le pueden dar, aparte que tiene un efecto tóxico en especial la toxicidad por lupanina y sabor amargo por lo que es necesario someterlo a un tratamiento antes de su transformación, pero el interés de una variedad de *Lupinus* libre de alcaloides o con bajo contenido ha ido aumentando en todo el mundo pero solo pocas empresas de fitomejoramiento siguen sus estudios ya que la cuantificación de los alcaloides del *Lupinus* es esencial para la evaluación de nuevas variedades, un estudio realizado por Götz, (2014), menciona que uno de los métodos con el que se trabaja para realizar la cuantificación de los alcaloides es por cromatografía pero lamentablemente este método es muy costoso y requiere mucho tiempo.

En la investigación de los “Métodos para la determinación de alcaloides de quinolizidina en *Lupinus mutabilis*” de von Baer, Reimerdes, & Feldheim, (1979) los métodos utilizados resultaron ser destructivos puesto que para realizarlo se necesitó utilizar harina de tarwi (*Lupinus mutabilis*) aparte de unos solventes para determinar el contenido de alcaloides, a pesar de utilizar métodos rápidos algunos de ellos como la determinación fotométrica en la parte de la separación de alcaloides para el uso de este método resultó ser lento, con el método de cromatografía la limpieza posterior de las muestras lleva demasiado tiempo en realizarlas. Por lo que se ha podido observar no existe un método de análisis rápido, no invasivo, confiable y de bajo costo que pueda solucionar el problema de la determinación de alcaloides del tarwi (*Lupinus mutabilis*).

Se ha podido observar que hasta el momento no existe un método el cual sea rápido, barato, confiable y en especial no invasivo o destructivo que pueda solucionar el control como asegurar la calidad en la poscosecha, en la línea de producción y en el mejoramiento de una variedad de *Lupinus* libre de alcaloides o en caso contrario de alto contenido de alcaloides sin destruir el grano de tarwi, por es ello es que se propone desarrollar un nuevo método no invasivo de cuantificación de los alcaloides en especial de la lupanina que es lo que más predominan en el tarwi dentro de los alcaloides quinolizidínicos (QA), puesto que Puno es la tercera región con más producción de tarwi a nivel nacional según Garay Canales, Felix Huanca, & Huanay Lorenzo, (2015), por consiguiente se planteó la siguiente pregunta de investigación:

- ¿Existirá relación entre los resultados de los métodos de espectroscopía dieléctrica de microondas y UHPLC para el desarrollo del método no invasivo de cuantificación de lupanina en diferentes matrices de tarwi?

1.2.OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA

1.2.1. Objetivo general

- Determinar la relación de los resultados de espectroscopía dieléctrica de microondas (MDS) y UHPLC para el desarrollo y validación del método no invasivo de cuantificación de la lupanina en diferentes matrices del tarwi.

1.2.2. Objetivos específicos

- Determinar los espectros dieléctricos a diferentes concentraciones de la lupanina.
- Validar el método no invasivo de cuantificación de la lupanina en diferentes matrices por espectroscopía dieléctrica de microondas con el UHPLC.

1.3. JUSTIFICACIÓN

Tarwi (*Lupinus mutabilis*) es oriundo de los andes siendo la única leguminosa de grano comestible de esta parte de la región, comprende a varios países latinoamericanos desde Ecuador hasta Chile y el noreste de Argentina, esta leguminosa junto con otros alimentos andinos jugaron un papel importante en la alimentación de la población andina (INDECOPI, 2017), encontrándose hasta en las orillas de lago Titicaca y tolerando las heladas del crudo invierno de los andes (Vicente Rojas, 1995), en la actualidad el tarwi tiene una amplia variedad culinaria, combinándolo con tubérculos y frutas esta última para aprovechar los minerales presentes en el *Lupinus* (Salazar Granara, 2015).

Estadísticamente a nivel nacional para Garay Canales et al., (2015) menciona que las tres principales regiones productoras de tarwi según superficie cosechada son La Libertad con 2224,18 toneladas, Cusco con 2104,86 toneladas y Puno 1731,86 toneladas, con un promedio de 1725 Kg/ha en campañas de 2006-07 y 2007-08; en la región de Puno el cultivo de tarwi está centrado en las provincias de Yunguyo y Pomata a un altitud de 3800 m.s.n.m. alrededor del lago Titicaca (Tapia, 2015).

Esta leguminosa es un alimento con alto valor proteico (cuarenta y uno a cincuenta y uno por ciento), aceites (catorce a veinticuatro por ciento) proporciona también vitaminas y minerales (Chirinos-arias, Jiménez, & Vilca-machaca, 2015), el contenido de proteínas es mayor al de soya esto dependiendo de la especie de lupino, contiene calcio, aminoácidos ayudando de esta manera al desarrollo adecuado de los niños (Gutiérrez, Infantes, Pascual, & Zamora, 2016), y contiene también un dieciocho por ciento de peso en seco de lípidos (Carvajal-Larenas, Linnemann, Nout, Koziol, & van Boekel, 2016).

Pero estas características nutritivas se ven afectadas por la presencia de sustancias tóxicas y su sabor amargo puesto que estas semillas contienen alcaloides quinolizidínico, dentro de este grupo encontramos a la lupanina y esparteína que son las que destacan, limitándose su consumo a nivel mundial (Gutiérrez et al., 2016), por este motivo es necesario realizar un proceso de deslupinación (Jacobsen & Mujica, 2006) o depuración de los alcaloides de esta manera la semilla no es amarga y tóxica (Hatzold, Elmadfa, Gross, Wink, & Hartmann, 1983), pero a pesar del proceso depuración se necesita de un control que ayude a verificar la cantidad de alcaloides aún restantes o la cantidad de esta en la materia prima y su calidad.

Por ello la creciente demanda de garantía en la calidad e inocuidad de los alimentos requiere métodos analíticos para un control objetivo en la producción alimentaria (Porep, Kammerer, & Carle, 2015), esto subraya que la calidad es un parámetro importante en la industria alimentaria por lo que hay la necesidad de técnicas analíticas rápidas y confiables para el control de calidad como las técnicas espectroscópicas (Abbas, Dardenne, & Baeten, 2012).

La espectroscopía dieléctrica surge con el fin de reemplazar los métodos tradicionales de análisis puesto que en la actualidad el control de calidad de los procesos en la industria alimentaria requiere y exige método no destructivos en los alimentos que sean rápidos precisos y no muy tediosos mejorando su eficiencia en el control de procesos, proporcionando información valiosa sobre los constituyentes y la estructura de los alimentos (M. Castro-Giráldez, Fito, Prieto, Andrés, & Fito, 2012), esta técnica analítica emergente es de bajo costo de funcionamiento en la industria, es rentable, rápida, no destructiva o invasiva, directa, respetuosa con el medio ambiente, sin embargo los métodos tradicionales son intensivos en mano de obra, largos y costosos (Porep et al., 2015).

De tal modo que con el fin contribuir al desarrollo y producción regional y nacional se necesita validar una metodología con la técnica de espectroscopía dieléctrica de microondas con el fin de que facilitará y ayudará al análisis para la cuantificación de la lupanina en un tiempo corto y a bajo costo comparado a otros métodos de cuantificación de alcaloides, aportando también al mejoramiento de la calidad en la materia prima, procesos en línea dentro de una industria como también del producto terminado y el mejoramiento de la especie del grano.

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES

Traffano-Schiffo, (2021), en su trabajo de investigación titulada “Nueva metodología para analizar las propiedades dieléctricas en rangos de radiofrecuencia y microondas en carne de pollo durante el tiempo postmortem”, publicado en la revista *Journal of Food Engineering*, tuvo como objetivo analizar los espectros dieléctricos durante el tiempo postmortem en la carne de pollo. Los resultados que se obtuvieron fueron que se logró demostrar que la amplitud de la constante dieléctrica en la dispersión β es capaz de determinar la degradación del sistema actina-miosina y, además, las propiedades dieléctricas en las dispersiones α , β y la conductividad iónica permiten determinar el tiempo postmortem de la carne de pollo, de forma no destructiva.

Kalamiotis, Ilchev, Irvine, & Dimitrakis, (2019), en su trabajo de investigación titulada “Uso optimizado de la espectroscopía dieléctrica a frecuencias de microondas para la supervisión directa en línea de las reacciones de polimerización”, publicado en la revista *Sensors and Actuators, B: Chemical*, tuvo como objetivo analizar el medio de reacción de una polimerización de ϵ - caprolactona. Los resultados que se obtuvieron fueron que se logró demostrar que los valores de las propiedades dieléctricas exhibidas por el medio de reacción con el tiempo podían correlacionarse directamente con el progreso de la reacción. Así, los datos experimentales permitieron construir una curva de calibración que podía utilizarse para predecir la conversión de monómero en polímero en cualquier punto de la reacción. Se llegó a concluir, esta investigación permitirá desarrollar una instrumentación adecuada y una estrategia mejorada para la supervisión y el control en línea de una amplia gama de reacciones de polimerización.

Soltani Firouz, Rashvand, & Omid, (2021) en su trabajo de investigación titulada “Rápida identificación y cuantificación de la adulteración de aceites de sésamo mediante espectroscopía dieléctrica de baja frecuencia combinada con quimiometría”, publicado en la

revista *Lwt - Food Science and Technology*, tuvo como objetivo desarrollar un método analítico rápido, práctico y de bajo costo para detectar y cuantificar la adulteración en el aceite de sésamo (SEO) con el aceite de colza (RO). Los resultados que se obtuvieron fueron la validación fuera de muestra el cual indicó que el modelo SVR del núcleo de la función de base radial (RBF) tuvo el mejor rendimiento con el coeficiente de correlación (R) de 0,9604, el error absoluto medio (MAE) de 4,9888 (mL/100 mL) y el error cuadrado medio de la raíz (RMSE) de 6,0129 (mL/100 mL) seguido del modelo ANN con un valor R de 0,9192, MAE de 6,4033 (mL/100 mL) y RMSE de 7,8072 (mL/100 mL). Se llegó a concluir que los resultados mostraron que la técnica desarrollada como una herramienta simple y económica tiene una capacidad aceptable para detectar impurezas de RO en SEO. Sin embargo, se necesita más investigación para encontrar si el sistema desarrollado sería capaz de detectar adulteraciones generadas por otros aceites comestibles de bajo costo en SEO.

Velásquez et al., (2021), en su trabajo de investigación titulada “Efecto de la madurez de la cereza del café en el rendimiento del proceso de secado del grano: isoterms de sorción y espectroscopía dieléctrica”, publicado en la revista *Food Control*, tuvo como objetivo evaluar el rendimiento de secado en la cereza de café maduro mediante isoterms de sorción y espectroscopía dieléctrica. Los resultados que se obtuvieron fueron que las isotermas de sorción dinámica del café pergamino revelaron que en la etapa de madurez tiene un efecto sobre la disponibilidad de agua del grano, y que dicha dependencia podría afectar el secado del grano y que la constante dieléctrica se utilizó para medir la humedad como a_w de los granos, el cual el contenido de humedad y la función sigmoide para el modelo de a_w tuvieron un rendimiento de (R: 0.82 – 0.88) dentro de un rango de 0.3 GHz a 0.9 GHz. Se llegó a concluir que la frecuencia de 0.3 GHz fue la más consistente y que a pesar de los errores fueron menores para el modelo de selección de características, la frecuencia única es preferible ya que tiene una complejidad mínima y teniendo como alternativa que está la tecnología podría considerarse para la evaluación de las características de agua del grano durante el secado del café o el almacenamiento de café verde.

Blakey & Morales-Partera, (2015) en su trabajo de revisión titulada “Espectroscopía dieléctrica de microondas- una metodología versátil para el análisis, la supervisión y el control de procesos de alimentos en línea y no destructivos”, publicado en la revista *Engineering in Agriculture, Environment and Food*, tuvo como objetivo ofrecer una visión general de los fundamentos de la tecnología y dar revisión de las posibles aplicaciones en la industria alimentaria. También se consideran los retos y el potencial futuro de esta

tecnología. De la misma manera dar una explicación sobre una metodología analítica en línea, compacta y no invasiva/destructiva el cual se basa en la en la rotación de las moléculas y sus grupos funcionales en presencia de un campo electromagnético en el rango de frecuencias de 0.3 a 300 GHz y que puede utilizarse para diferenciar materiales de distinta composición.

2.2. TARWI (*Lupinus mutabilis*)

El tarwi o chocho (*Lupinus mutabilis*) es una especie leguminosa oriunda de los andes de Sudamérica que se cultiva desde los 1500 m.s.n.m. hallándose en varios países como Perú, Bolivia, Colombia, Venezuela, Ecuador, Chile y Argentina (Jacobsen & Mujica, 2006), cultivadas también en España, Italia y Grecia (Tapia, 2015). La producción en el Perú son principalmente de los departamentos de Puno, Cusco, Huancayo, Cajamarca, La Libertad entre otras regiones más (Aguilar Angulo, 2015), esta leguminosa se caracteriza por su alto contenido de proteínas (Espejo Flores, 2017) y en grasas superando en el valor proteico a la soya (Aguilar Angulo, 2015).

El tarwi es un grano cultivado por agricultores de zonas alto andinas en Perú y Bolivia pero esta sigue siendo poco conocido en común como muchos otros granos andinos como un ‘Cultivo perdido de los incas’ (Eastwood & Hughes, 2008).

«Los nombres comunes son Chocho, Lupino, Altramuz, (Español), Tarwi, Tarhui (Quechua), Candy stick (Ingles), y Lupin (Francés)» (Salazar Granara, 2015), .Tauri (Aymara) (Mercado, 2018). En la Figura 1, se muestra la distribución de los nombres comunes.



Figura 1. Distribución de los nombres comunes en Ecuador, Perú y Bolivia.

FUENTE: Mercado, (2018).

2.2.1. Origen y taxonomía de *Lupinus mutabilis*

- Origen

El lupino tiene su origen en el viejo mundo en la región del mediterráneo, también en el nuevo mundo que comprende América del Norte y las Tierras Altas Andinas (Trugo, von Baer, & von Baer, 2003) pero en sí el origen del cultivo del tarwi no se conoce a ciencia cierta pero es una de las plantas más cultivadas en la Sudamérica antigua (Vicente Rojas, 1995), además 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). El lupino es la semilla o grano de especies de *Lupinus* domesticada el cual se tiene un amplio uso en la comunidad para referirse a plantas silvestres, semillas o granos domésticos de todas las especies de *Lupinus* (D. S. Petterson, 2015), conociéndose desde tiempo que el lupino se domesticó independientemente tanto en el mediterráneo como en los Andes (Eastwood & Hughes, 2008) pero en los Andes ofrecía mejores oportunidades como cultivo mejorando los suelos, su nutrición hasta los ingresos (Nicklin, Rivera, & Nelson, 2006). Se llegaron a conocer un total de 450 especies de *Lupinus* en todo el mundo de los cuales 200-300 son de América del Sur, siendo solo cuatro de estas especies domesticadas con los intereses comerciales y agronómicos: *Lupinus albus* (lupino blanco), *Lupinus angustifolius* (estrecho hoja o lupino azul), *Lupinus luteus* (lupino amarillo) y *Lupinus mutabilis* (lupino andino) de acuerdo a (Götz, 2014; Reinhard, Rupp, Sager, Streule, & Zoller, 2006), en las Américas hay alrededor de 100 especies de lupinos nativos de los cuales solo el *L. mutabilis*, la perla, o el Lupino andino como se le conoce son utilizados como fuente de alimentación (D. S. Petterson, 2015), sin embargo existen 200-500 especies perennes de lupinos herbáceos que son cultivos de granos (Islam & Ma, 2016) la mayoría de ellas en el nuevo mundo (Trugo et al., 2003). Las especies del nuevo mundo comprenden más del 90 por ciento del total de especies mientras que las especies del viejo mundo incluyen alrededor de 13 especies de lupinos, donde los cultivos destinados al consumo humano son tres especies del viejo mundo (*L. albus*, *L. angustifolius* y *L. luteus*) y una especie del nuevo mundo (*L. mutabilis*) (Islam & Ma, 2016) como se muestra en diagrama de las relaciones filogenéticas en la Figura 2.

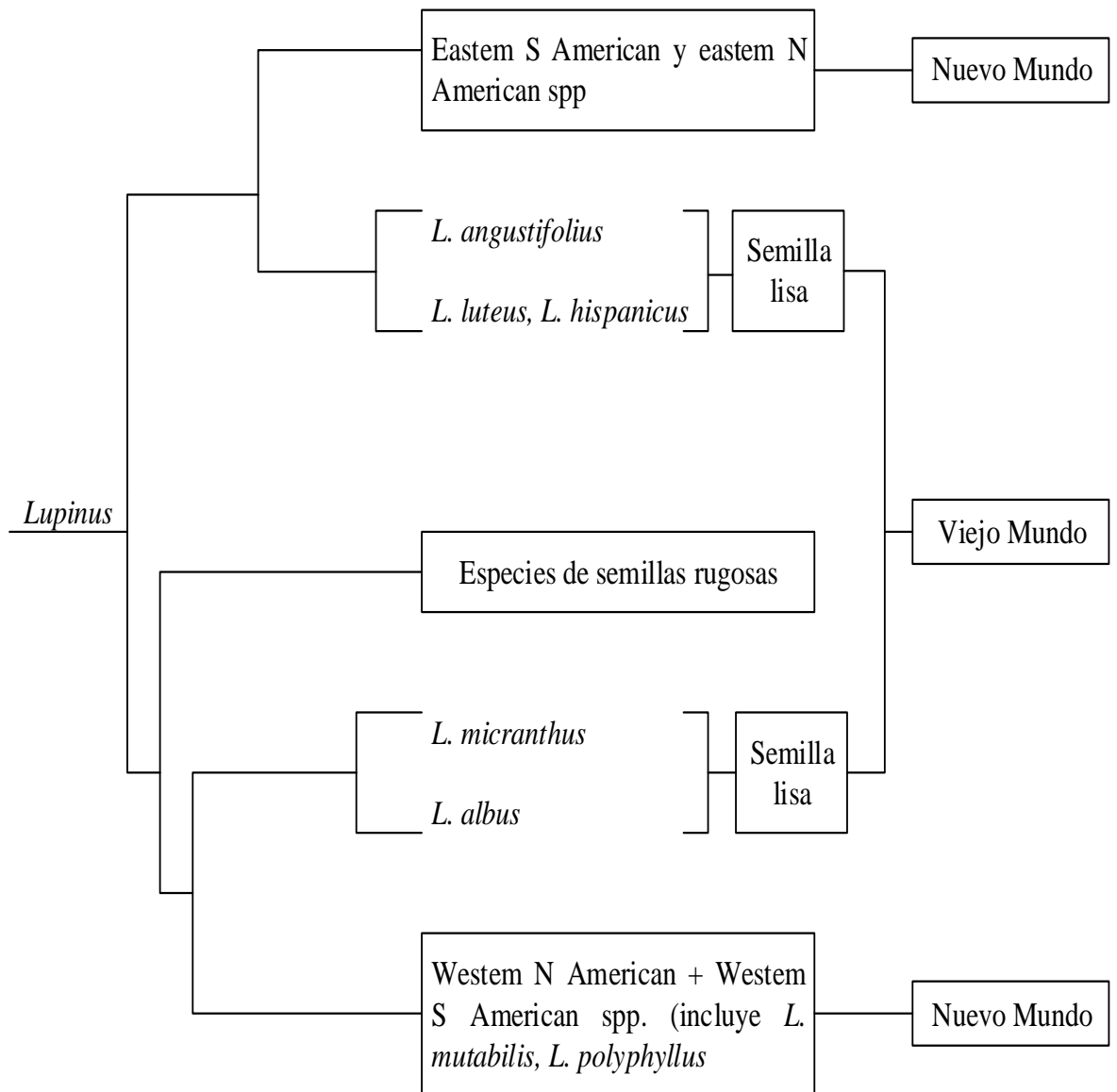


Figura 2. Diagrama de las relaciones filogenéticas entre el lupino del viejo y nuevo mundo.

FUENTE: Wolko, Clements, Naganowska, Nelson, & Yang, (2011).

- **Taxonomía**

Para la definición taxonómica en relación de esta especie existe una problemática siendo Sweet en 1825 el primero que lo describió estudiando una planta en el jardín de Bury Hill, de la cual no se conoce hasta la fecha la procedencia de la semilla (Chirinos-Arias, 2015; Von Baer, 1988; Gross, 1982).

La clasificación taxonómica según Garay Canales et al., (2015) el Tarwi es la siguiente:

Nombre común: Tarwi, Chocho

Nombre científico: *Lupinus mutabilis* sweet

División: Espermatofitos

Sub división: Angiosperma

Clase: Dicotiledóneas

Sub Clase: Arquidamideas

Orden: Rosales

Familia: Papilionoideas

Sub familia: Genisteas

Género: *Lupinus*

Especie: *Mutabilis*

En la región andina compuesta por Perú, Ecuador y Bolivia se logró identificar 83 especies del género *Lupinus* (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 de Cusco, Abancay, Huancavelica y Ayacucho, en la zona del altiplano alrededor del Lago Titicaca como “tauri”, variando desde 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).

Las principales especies de *Lupinus* cultivadas a nivel mundial son: *Lupinus albus*, *Lupinus luteus*, *Lupinus angustifolius* y *Lupinus mutabilis* (Carvajal-Larenas et al., 2016) como se muestra en la Figura 3.

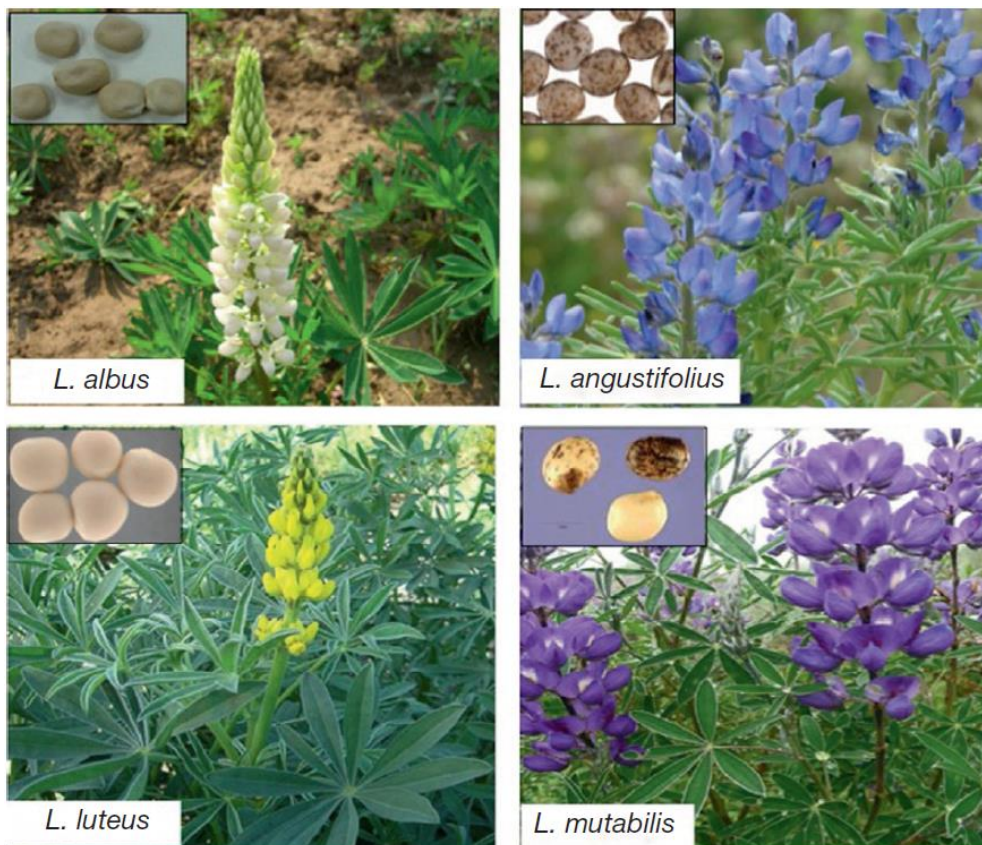


Figura 3. Las cuatro principales especies de *Lupinus*.

FUENTE: Islam & Ma, (2016).

2.2.2. *Lupinus mutabilis* en los andes

El *Lupinus mutabilis* es una leguminosa antigua de los andes cultivadas en Sudamérica (Vicente Rojas, 1995), es un cultivo de gran importancia en los andes de la misma manera que lo es en Australia y Europa puesto que es un foco de desarrollo y mejora en esta parte de mundo (Eastwood & Hughes, 2008), se encuentra mayormente a una altitud sobre el mar de 2000 a 3800 metros hasta alrededor del lago Titicaca, va desde Ecuador hasta Chile en valles y laderas interandinas (Aguero Aguilar, 2012), a pesar de ser una leguminosa rica en nutrientes como especie originaria de la zona andina esta fue marginada y desplazada por el cultivo de las habas siendo afectada a la misma vez por su alto contenido de alcaloides proporcionándole un fuerte sabor amargo (poniéndolo en desventaja frente a otras

leguminosas) el cual para poder ser removido se necesita de un proceso tradicional de lavado (Vicente Rojas, 1995). Además, Mercado, (2018) menciona que el tarwi fue domesticada desde tiempo pre incaicos citando a Tello 1976 “Se ha encontrado restos de semillas en tumbas del período de Nazca en el desierto costero peruano, y también representaciones de la planta en pinturas estilizadas en grandes macetas de la cultura Tiahuanacota”.

2.2.3. Composición química del grano y valor nutricional

El Tarwi como leguminosa es comúnmente aprovechado como un producto cocido en agua llamando generalmente mote el cual se expende en los mercados y calles de distintas ciudades, siendo una de las formas más común de ser consumidas por la mayoría de las personas de los que tienen cierto hábito de consumo (Vicente Rojas, 1995).

- Proteínas

El tarwi es un alimento que contiene una elevada cantidad de proteínas a comparación de la soja el cual favorece al correcto desarrollo del niño por lo que lo hace de interés para la nutrición, el contenido de proteína cruda para el *Lupinus mutabilis* es de 43.07 por ciento, pero esta cantidad proteica depende mucho de la especie de lupino, siendo que para el *Lupinus albus* de 36.7 por ciento, *Lupinus angustifolius* de 31.1 por ciento y para el *Lupinus luteus* de 41.8 por ciento respectivamente (Gutiérrez et al., 2016), según Petterson, (2015) el contenido de la proteína cruda varía de 28 por ciento a 42 por ciento de las principales especies y el lupino andino como grano entero, para Islam & Ma, (2015) el contenido de proteína aproximada que contiene el lupino es del 40 por ciento (en peso) por lo que indica juega un rol importante en los beneficios del cuerpo humano ya que posee un valor biológico del 91 por ciento en comparación con las proteínas del huevo, contiene altos niveles adecuados de aminoácidos esenciales ya que estos se almacenan en las globulinas teniendo como ejemplo el alto contenido de lisina. La proteína es rica en aminoácidos como cisteína y relativamente rica en lisina pero tiene una deficiencia en metionina (Galek, Sawicka-Sienkiewicz, Zalewski, Stawiński, & Spychała, 2017) como indica Wolko et al., (2011), el *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 está la arginina 4.6%, leucina 2.9%, lisina 2.56 % y de más detallados por Kole, (2011); D. S. Petterson, (2015). En la Tabla 1 se observa la composición química de las principales especies de lupinos para el consumo humano.

Tabla 1. Composición química de las principales especies de *Lupinus* (g/Kg^{-1} promedio de datos mundiales)

	<i>L. albus</i> (albus lupin, White lupin)	<i>L. angustifolius</i> (Australian sweet lupin, narrow-leafed lupin)	<i>L. luteus</i> (yellow lupin)	<i>L. mutabilis</i> (peart lupin, Andean lupin)
Humedad	86	85	94	71
Proteína (N x 6.25)	361	322	414	460
Ceniza	33	28	37	40
Grasa cruda	91	58	57	110
Fibra cruda	104	150	127	110
ADF	152	197	195	
NDF	171	227	230	
TDF	390	284	320	
Lignina	15	7	5	
Almidón	<10	<10	<10	
Energía bruta (MJ)	19.0	18.6	18.6	

FUENTE: Lupin: Overview D. S. Petterson, (2015)

- Grasas

El interés de esta leguminosa se generó por la alta calidad de sus semillas, siendo una fuente de proteínas con 25-50 por ciento y aceites con 21 por ciento, siendo también rico en grasas poliinsaturadas comparándose de esta manera con la calidad de la soja (Eastwood & Hughes, 2008). El contenido de grasa del *Lupinus* varía considerablemente entre las variedades de esta especie (Trugo et al., 2003), con respecto al contenido de lípidos en el lupino crudo esta varía de 5.5 gramos/100 gramos dw (dry weight, peso en seco) en *Lupinus luteus* a 18.9 gramos/100 gramos dw (dry weight, peso en seco) en el *Lupinus mutabilis*, sin embargo, en esta última variedad la cantidad lipídica oscila entre un 13.0 a 24.6 gramos/100 gramos dw (dry weight, peso en seco) (Carvajal-Larenas et al., 2016), Trugo et al., (2001) menciona que *L. mutabilis* es la mayor leguminosa en *Lupinus* que contiene una considerable cantidad de aceite siendo considerado como potencial para la producción de aceite, también menciona que la distribución de los ácidos grasos es variable entre las especies teniendo en niveles bajos la cantidad de ácidos grasos saturados como se muestra en la Tabla 2, de la misma

manera las especies de *L. albus* y *L. luteus* tienen un alto contenido de ácido linolénico pero relativamente bajos para *L. angustifolius* y *L. mutabilis*, mientras que los niveles de ácido oleico son comunes para todas las especies particularmente para *L. albus* y *L. mutabilis*.

El *Lupinus mutabilis* puede usarse comercialmente para la producción de aceite ya que es considerado como potencial para esta, aunque su contenido de ácido linolénico es bajo esto no es muy importante nutricionalmente pero puede ser ventajoso para mejorar la conservación en comparación con otros aceites vegetales, conociendo estos perfiles de ácidos grasos se puede observar que *L. mutabilis* y *L. albus* son más parecidos al aceite de maní, mientras que el *L. angustifolius* y *L. luteus* se parecen más a los aceites de maíz pero estos difieren en sabor (Trugo et al., 2003).

Tabla 2. Composición de ácidos grasos de semillas de *Lupinus* en comparación con las semillas de soja

Leguminosa	Porcentaje de ácidos grasos totales												SFA	MUFA	PUFA
	14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	22:0	22:1	24:0				
<i>L.albus</i>	0.2	7.2	0.5	2.1	48.6	19.9	13	0.8	4.4	2.2	1.2	16	51	33	
<i>L.angustifolius</i>	0.3	11	0.2	6.2	33.5	39.4	4.6	0.7	2.6	0.2	0.5	21	34	44	
<i>L. luteus</i>	0.3	5.5	0.2	2.8	24.3	43.9	10.6	2.4	7	1.1	1	19	26	55	
<i>L. mutabilis</i>	0.2	11.5	0.5	9.9	45.7	27.3	2.3	0.9	1.2	tr	0.3	24	46	30	
Glycine max (Soya bean)	nd	10	0.2	4	25	52	7.4	nd	tr	tr	tr	10	26	64	

^aÁcidos grasos: 14:0, mirístico; 16:0, palmítico; 16:1, palmitoleico; 18:0, esteárico; 18:1, oleico; 18:2, linoleico; 18:3, linolénico; 20:0, araquídico; 22:0, behénico; 22:1, erúcico; 24:0, lignocérico.

^bAGS, ácidos grasos saturados totales; AGMI, ácidos grasos monoinsaturados totales; AGP, ácidos grasos poliinsaturados totales; nd, no determinado.

^cAdaptado de Ayorinde FO, Garvin K y Saeed K (2000) Determinación de la composición de ácidos grasos de aceites vegetales saponificados mediante MALDI1-TOFMS Comunicaciones rápidas en espectrometría de masas 14: 608 615. Otros datos adaptados de Muzquiz M, Burbano C, Bouthelie V et al. (1982) Estudio de los elementos esenciales de destinadas variedades de cinco especies del Genus *Lupinus* cultivadas y espontáneas de la Península Ibérica. In: Actas de la 2ª Conferencia Internacional de *Lupinus*, pp.173-181.

FUENTE: Lupin Trugo et al., (2003).

2.3. ALCALOIDES

Los alcaloides están ampliamente distribuidos en el reino vegetal, lo que constituyen un gran grupo de compuestos secundarios nitrogenados básicos (David S. Petterson, Harris, & Allen, 2016) los cuales son derivadas biosintéticamente de aminoácidos que son aislados tradicionalmente de plantas vasculares (Fattorusso & Tagliatalata-Scafati, 2008; Ringuelet & Sonia, 2013), donde los alcaloides tropánicos, pirrolizidínicos, quinolizidinílicos y los pepiridínicos están dentro de la ornitina y lisina (Wink, 1993). Estos compuestos nitrogenados básicos pueden formar sales con ácidos clasificándose en tres grandes grupos que son: los verdaderos alcaloides, pseudoalcaloides y protoalcaloides, más detallados por David S. Petterson et al., (2016), aunque no todos los compuestos vegetales que contienen un átomo de nitrógeno básico se consideran alcaloides como a la mimosina que es considerada como una aminoácido tóxico y no un alcaloide.

La mayoría son de carácter básico, cristalinos, aunque algunos forman precipitados amorfos y otros pocos son líquidos a temperatura ambiente (como nicotina, la conina y la esparteína), no tienen olor, son amargos y en general incoloros (aunque también hay excepciones, como la berberina y la sanguinarina), de los cuales el alcaloide del lupino está clasificado dentro de los oxigenados cuaternarios sólidos a temperatura ambiente y que son fijos y cristalizables (Fattorusso & Tagliatalata-Scafati, 2008).

2.3.1. Alcaloides quinolizidínicos (QA)

El *Lupinus mutabilis*, conocido como tarwi, tauri, tarhui, chocho, chuchus, ccequilla y andean lupin (Mercado, 2018; Trugo et al., 2003), muestra una gran diversidad genética de la planta adaptándose 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 (Jacobsen & Mujica, 2006). Las semillas de Lupino son importantes para la nutrición animal y humana sin embargo este grano necesita de un tratamiento previo puesto que contienen compuestos tóxicos los cuales son los alcaloides quinolizidínicos (AQ), estos alcaloides son sustancias anti nutricionales el cual le permiten a la planta defenderse de la agresión del medio ambiente (Jacobsen & Mujica, 2006), se llama alcaloides quinolizidínicos 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), conteniendo concentraciones de hasta 6 por ciento en las variedades silvestres (Ganzera, Krüger, & Wink, 2010; Reinhard et al., 2006), aparte de la toxicidad este alcaloide le confiere a la semilla un fuerte sabor a amargo (Gutiérrez et al., 2016) y capacidad venenosa (Gross, R., y. Von Baer, 1988). Dentro de los alcaloides quinolizidínicos encontramos la esparteína, la lupanina o la angustifolina que son utilizadas como sustancias químicas para defenderse de insectos y otros herbívoros (Ganzera et al., 2010) otros compuestos que se encuentran en el *L. mutabilis* son la 13-hydroxylupanine, 4-hydroxylupanine, α -isolupanine (Hatzold et al., 1983), las intoxicaciones con estos compuestos en los mamíferos causan convulsiones, temblores hasta la muerte por paro respiratorio y cardiaco. En la Tabla 3 se muestra el contenido en porcentaje de los alcaloides quinolizidínicos en las especies de lupino, donde destaca principalmente la lupanina en tres especies de lupino (*L. albus*, *L. angustifolius*, *L. mutabilis*), mientras que Carvajal-Larenas et al., (2016) menciona que de los alcaloides que más destacan es la lupanina, seguido de la esparteína con un 12.6 por ciento y la 13-hidroxilupanina con un 9.6 por ciento.

Tabla 3. Alcaloides quinolizidínicos en las principales especies de *Lupinus* (% en fracción alcaloide)

Alcaloide	<i>L. albus</i>	<i>L. angustifolius</i>	<i>L. luteus</i>	<i>L. mutabilis</i>
Albine	15			
Lupanine	70	70		70
Multiflorine	3			
13-Hidroxylyupanine	8	12		2
4-Hidroxylyupanine	1			7
Angustifoline		10		<1
Lupinine			60	
Sparteine			30	20

FUENTE: Lupin: Overview D. S. Petterson, (2015).

En la Figura 4, se muestra que los compuestos de alcaloides quinolizidínicos son derivados bicíclicos, tricíclicos o tetracíclicos y sus concentraciones varían de acuerdo a la especie en donde son cultivadas, los granos de cultivos domesticados modernos generalmente contienen

menos de 200 mg Kg⁻¹ de alcaloides contrario a los granos de tipo silvestre que aún existen en varios países con 5000 a 40000 mg Kg⁻¹ de alcaloides (D. S. Petterson, 2015).

Los alcaloides son producidos de forma intracelular por los cloroplastos de las hojas acumulándose principalmente en la vacuola y son distribuidos por toda la planta a través del floema y almacenado en células epidérmicas como en las semillas, por consiguiente, existe una mayor diversidad de alcaloides en las hojas como en las semillas (Waksmundzka-Hajnos & Sherma, 2011; Wink, Schiebel, Witte, & Hartmann, 1982). Las variedades de lupino amargo tienen mayor contenido de alcaloides que varía entre 0.5 por ciento – 6 por ciento, en comparación a las variedades dulces que presentan alrededor de un 0.02 por ciento (Resta, Boschin, D'Agostina, & Arnoldi, 2008). El contenido de alcaloides del *Lupinus mutabilis* varía desde 0.07 hasta 4.5 g/100g MS (Carvajal-Larenas et al., 2016; Trugo et al., 2003), sin embargo el ecotipo Yunguyo de la región de Puno contiene una cantidad relativamente alta de alcaloide con una cantidad de 5g/100g MS junto con los ecotipos de Cajamarca, Cholo fuerte de Ancash y H6 INIA de Junín de acuerdo a la investigación de (Cortés-Avendaño et al., 2020), pues el contenido de alcaloides depende de las especies, ecotipos, variabilidad genética, factores ambientales y ubicación geográfica (Panter, Welch, & Gardner, 2017)

El cultivo del *Lupinus mutabilis* se ha realizado durante siglos en el altiplano andino, a pesar de ser un cultivo alimentario las semillas del *L. mutabilis* aglomera un alto nivel de alcaloides quinolizidínicos (3 por ciento) por lo que es necesario realizar un proceso de depuración antes de su consumo (Hatzold et al., 1983) mientras que *L. luteus*, *L. albus*, *L. angustifolius* se han consumido durante bastante tiempo en los países europeos (David S. Petterson et al., 2016).

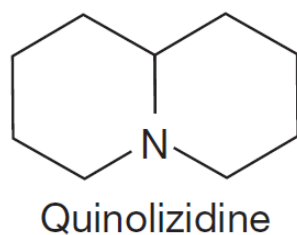


Figura 4. Estructura de la quinolizidina.

FUENTE: D. S. Petterson, (2015)

- Lupanina

La lupanina se encuentra en mayor concentración (46-64.4%) en el tarwi, siendo su fórmula general ($C_{10}H_{19}N_2O$) como se muestra en la Figura 5, tiene un peso molecular de (PM= 248.36 g/mol), la lupanina es soluble en: Agua, cloroformo, éter, alcohol e insoluble en éter de petróleo (Carvajal-Larenas et al., 2016), sin embargo, en algunos ecotipos como en el Inti se encuentran aproximadamente el 80 por ciento del total de alcaloides (Gross, R., y. Von Baer, 1988).

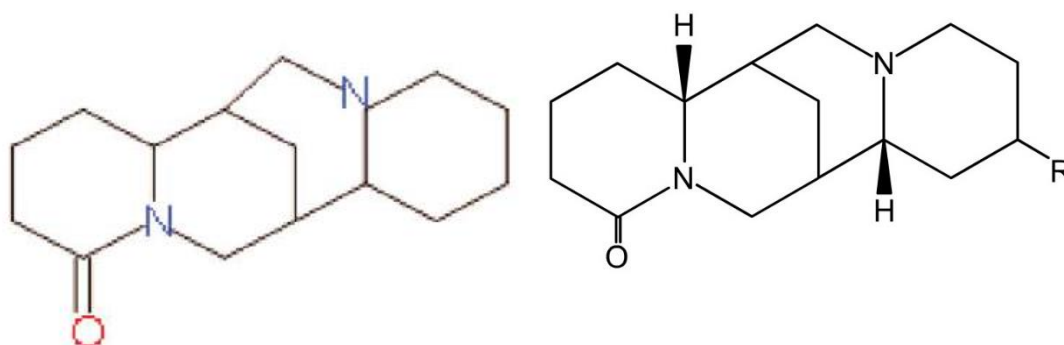


Figura 5. Fórmula molecular de la lupanina.

FUENTE: Carvajal-Larenas et al., 2016; Wink, (1993).

- Esparteína

De acuerdo a Frick et al., (2017) reportaron que la esparteína se encuentra en menor cantidad respecto a la lupanina aproximadamente en un 16 por ciento, su fórmula general de la esparteína es ($C_{15}H_{26}N_2$) ver la Figura 6, tiene un peso molecular de (PM = 243.36 g/mol) siendo esta y la lupanina los AQ más tóxicos para los seres humanos y animales en laboratorio, la esparteína es llamada también lupidina, su textura es espesa, oleosa e inoloro.

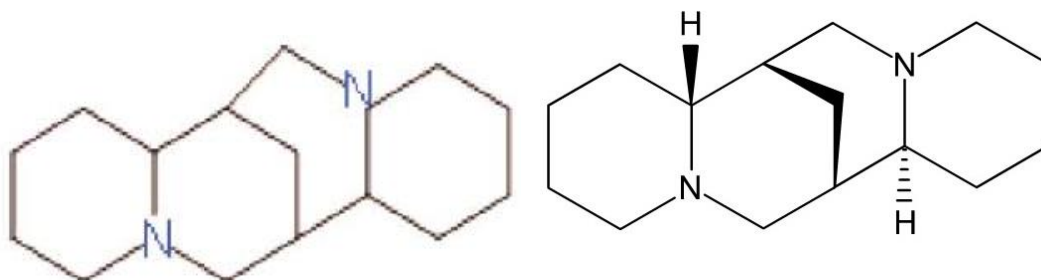


Figura 6. Fórmula molecular de la esparteína.

FUENTE: Carvajal-Larenas et al., 2016; Wink, (1993).

- 13-Hidroxilupanina

Hatzold et al., (1983) y Wink, (1993) mencionan que este alcaloide abunda un 0.46 por ciento en seco, pero en investigaciones recientes Frick et al., (2017) expresa que la hidroxilupanina representa un 12% del total de los alcaloides, dependiendo de la ubicación del grupo hidroxilo por lo que pueden ser 4-hidroxilupanina o 13-hidroxilupanina, tiene un peso molecular de (PM = 264 g/mol) y una estructura molecular de (C₁₅H₂₄N₂O₂) como se muestra en la Figura 7.

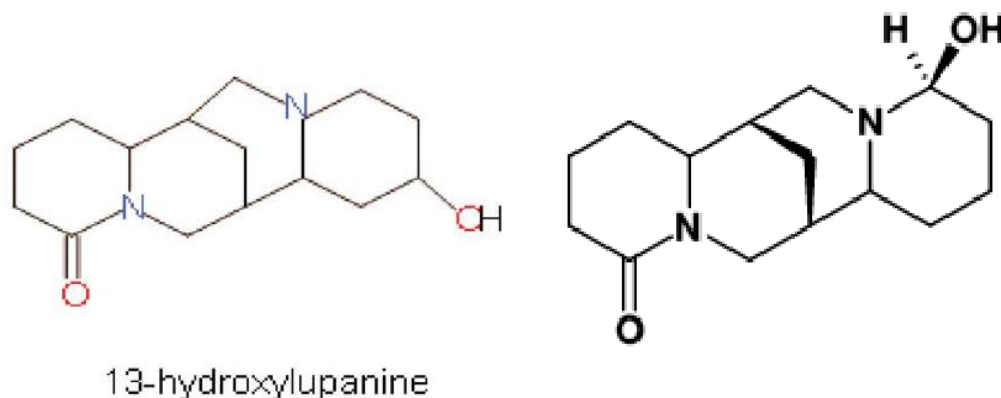


Figura 7. Formula molecular de 13-hidroxilupanina.

FUENTE: Carvajal-Larenas et al., (2016); Wink, (1993).

2.3.2. Toxicidad de los alcaloides

Los alcaloides son los principales fitoquímicos del *Lupinus mutabilis* (Magalhães et al., 2017). El consumo de estos alcaloides en elevadas concentraciones está asociado con enfermedades hepáticas, bloqueo neuromuscular, excitación del sistema nervioso central lo que provoca convulsiones, temblores, paros respiratorios y cardiacos causando la muerte (Carvajal-Larenas et al., 2016; Ganzera et al., 2010). Teniendo un efecto sedante sobre el sistema nervioso central, siendo la esparteína la que produce el efecto más fuerte (Trugo et al., 2003). Estas plantas venenosas como lo es el *Lupinus* debido al grado de toxicidad que presentan tienen un impacto negativo en la reproducción animal ocasionando efectos secundarios en la fertilización, ovogénesis, espermatogénesis entre otros (Panter et al., 2017).

2.4. VARIEDADES

En el Perú y Sudamérica se encuentran una amplia gama de variedades y cultivares, en Perú, Bolivia y Chile como se muestra en la Tabla 4, en la actualidad se conservan varias semillas

de los cultivares o ecotipos en bancos de germoplasma de universidades, institutos de investigación y proyectos de cooperación técnica internacional, la colección de germoplasma en el Perú son alrededor de 1200 accesiones con un rendimiento de 800 - 2700 Kg/ha conservándose en cámaras frías (Jacobsen & Mujica, 2006), cultivadas en climas templados y fríos que van desde los 2000 y 3800 metros de altura sobre el nivel del mar (Tapia, 2015).

Tabla 4. Ecotipos y variedades más concurrentes del grano de tarwi (*L. mutabilis*)

CULTIVAR	PROVINCIA/ REGIÓN	PAÍS	AUTORES
Yunguyo, Yunguyo 1, Yunguyo 2 Sacacatani, , Vilquechico, SLP-1	Puno	Perú	(Jacobsen & Mujica, 2006; Mujica, Chura, & Moscoso, 2021; Tapia, 2015)
Andenes-80, SCG9; SCG 25, SCG-22	Cusco	Perú	(Jacobsen & Mujica, 2006; Mujica et al., 2021; Tapia, 2015)
Altagracia	Trujillo	Perú	(Jacobsen & Mujica, 2006; Mujica et al., 2021)
Seccelambra	Ayacucho	Perú	(Jacobsen & Mujica, 2006; Mujica et al., 2021)
Huancayo-1, Huancayo-6, UNCP	Junín	Perú	(Mujica et al., 2021; Tapia, 2015)
Cholo fuerte	Ancash	Perú	(Mujica et al., 2021; Tapia, 2015)
PLCO-1	Huánuco	Perú	(Tapia, 2015)
Paton grande	Trujillo	Perú	(Mujica et al., 2021)
Toralapa, Tarabuco	-	Bolivia	(Jacobsen & Mujica, 2006)
Inti	-	Chile	(Jacobsen & Mujica, 2006)

FUENTE: Elaboración propia

En la región de Puno se mantienen ecotipos caracterizados por la Universidad Nacional del Altiplano de los cuales 6 de los 14 ecotipos fueron evaluados por el Dr. Ángel Mujica en Puno (Cadema, Gandarillas, Ana, & Ravelo, 2019).

2.5. DESAMARGADO DEL TARWI

El tarwi o chocho es una leguminosa que por naturaleza los granos o semillas contienen alcaloides, lo que es necesario el desamargado a fin de disminuir el alcaloide residual propia de esta (Vivanco Cuaresma, 2018). El tarwi desamargado manifiesta la eliminación de alcaloides mediante diversos procesos que buscan el cumplimiento de estándares nacionales e internacionales (Quispe Sanca, 2015), es así que el tarwi desamargado según las normas técnicas peruanas y ecuatorianas es considerado como un producto comestible, que ha sufrido un proceso de desamargado, con un color predominantemente blanco-crema, sabor

y olor característico, libre de olores extraños y sobre todo del sabor amargo (INACAL, 2018; INEN, 2015).

2.5.1. Desamargado tradicional

El método tradicional para el desamargado de tarwi fue desarrollado hace miles de años con el objetivo de aprovechar los alimentos tóxicos en alimentos de agradable sabor, es así como iniciaron el desamargado del tarwi tras un proceso de cocción, hidratación en riachuelos o canales durante varios días y luego eran consumidas directamente o se secaban para su almacenamiento (Vivanco Cuaresma, 2018). Con el pasar del tiempo el método “Cuzco” fue una mejora del método tradicional con la reducción de tiempo en el deslupinizado y menor pérdida de los nutrientes (Quispe Condori, 2012), este método consiste en remojar el grano por 18 a 24 horas en una poza de agua, una vez remojada pasa a un proceso de cocción a presión que puede realizarse en una olla de presión o en hornos sencillos utilizando como combustible los mismos tallos y ramas de las plantas secas del tarwi. Seguidamente se realiza un lavado mecánico por turbulencia de 12 a 48 horas y finalmente este ya desamargado es secado durante uno a dos días bajo el sol (Vivanco Cuaresma, 2018). De acuerdo al Dr. Antonio Garandillas el cual es el miembro de la fundación Promoción e Investigación de Productos Andinos (PROINPA) indica que el costo para eliminar los alcaloides es alto, el consumo agua es mucho y requiere varios días; con el alcaloide eliminado el grano se vuelve muy susceptible ya que el tiempo de vida es corto con 2 a 3 días a causa de pudrición por bacterias, lo que exige tener una cadena de frío para su comercialización (Cadema et al., 2019).

2.5.2. Tecnología de desamargado por microondas

La técnica de extracción asistida por microondas (EAM) produce ondas de alta frecuencia comprendido entre 300 MHz y 300 GHz con longitudes de ondas que se extienden entre 0.001-1 m respectivamente (Kapoor, Butler, Pandhal, & Vaidyanathan, 2018). La energía del microondas es emitida en forma de ondas que penetran la materia e interactúa con las moléculas polares para generar calor (Rubio García, 2016), además esta energía es capaz de proporcionar una mejora de la eficiencia y de la calidad del proceso, principalmente para los materiales de baja conductividad térmica (Plaza González, 2015). Teniendo como ventajas la velocidad de calentamiento rápida, cortos tiempos de extracción, proceso limpio que no genera desechos y la reducción del uso de disolventes orgánicos (Rubio García, 2016). Las

ondas electromagnéticas generadas por el microondas son capaces de poder viajar a través del vacío, a diferencia de las ondas mecánicas que requieren de un medio material para poder viajar (Vinatoru, Mason, & Calinescu, 2017).

La extracción asistida por microondas es frecuentemente utilizada para extraer componentes bioactivos y alcaloides (Shankar et al., 2010). La vibración del agua y otras moléculas polares dentro de la biomasa húmeda genera el incremento de temperatura en los líquidos intracelulares, lo que provoca una alteración celular (Kapoor et al., 2018). El principio de extracción consiste en que las ondas de microondas penetran las muestras convirtiéndose en calor teniendo como resultado la extracción de compuestos bioactivos de las muestras en comparación con otros métodos de extracción como lo es por reflujo tradicional, la extracción Soxhlet entre otros (Xiong et al., 2016). Para la extracción por microondas depende del tipo de solvente, material vegetal, la potencia, las temperaturas, el tiempo de extracción, así como la naturaleza de la planta y la molécula (Akhtar, Javad, Yousaf, Iqbal, & Jabeen, 2019). Teniendo como ventaja de tener un tiempo de extracción corto, una tasa de alta de extracción y una buena calidad de producto, siendo ecológica en términos de energía, disolventes y preparación de la muestra de componentes bioactivos (Xiong et al., 2016).

En la extracción asistida por microondas utiliza su vitalidad para concentrar los metabolitos de las plantas con los disolventes, se ha demostrado su eficacia por la gran mayoría de los especímenes debido a sus facilidades de manejo y estabilidad, siendo una técnica avanzada que se está estudiando actualmente (Akhtar et al., 2019).

2.5.3. Tecnología de desamargado por ultrasonido

El ultrasonido se definen como ondas sonoras con una frecuencia que supera el límite de la audición humana (~ 20 kHz) y que viajan a través de un medio conductor, al igual que el sonido esta se transmite a través de cualquier sustancia sólida, líquida o gaseosa, que posea propiedades elásticas (Awad, Moharram, Shaltout, Asker, & Youssef, 2012; Rodríguez Barran, 2014). La ultrasonificación como también se le conoce como las ondas acústicas con una frecuencia mayor a los 18kHz o 20 kHz siendo inaudible para el oído humano teniendo una amplia diversidad de aplicaciones en la medicina, industria y ciencia (Pineda-Munoz et al., 2017). Mientras que Chemat et al. (2017), menciona que va desde 18 kHz y 100 kHz. Hoy en día los ultrasonidos de potencia están considerados como una tecnología emergente y prometedora en la industria alimentaria utilizando ondas acústicas, el potencial de esta

tecnología tanto en sistemas sólido-líquido como en sólido-gas ha despertado un gran interés por su capacidad de acelerar los procesos de transferencia de materia (Rodríguez Barran, 2014),

Existen dos niveles de potencia: ultrasonidos de alta potencia con intensidades que varían entre los 10 y 1000W*cm⁻² y los de alta potencia con baja frecuencia considerándose ultrasonidos de potencia, que varían de un rango de frecuencia que va desde los 20 a 100 kHz, aplicándose en la industria alimentaria ya que su uso provoca cavitación.(Chemat et al., 2017). Sin embargo, la gama de frecuencias, las aplicaciones de los ultrasonidos en el procesamiento, el análisis y el control de calidad de los alimentos pueden dividirse en baja y alta energía, los ultrasonidos de energía baja pueden utilizarse la supervisión y análisis de materiales alimentarios durante su procesamiento y almacenamiento garantizando una alta calidad y seguridad a la misma vez para realizar el control de calidad de alimentos y de apoyar de forma no destructiva a la mejora genética del ganado y evaluar la composición de productos cárnicos crudos y fermentados, los ultrasonidos de alta energía son disruptivas, tienen efectos sobre las propiedades físicas mecánicas y químicas/bioquímicas de los alimentos, teniendo efectos prometedores en la seguridad y procesamiento de los alimentos, a la vez como alternativa para poder controlar la microestructura y modificar las características de los alimentos, sus propiedades funcionales, mejorar la vida útil (Awad et al., 2012).

La extracción asistida por ultrasonidos es una tecnología emergente que puede acelerar la transferencia de calor y de masa (Chemat et al., 2017). Para experimentos de extracción existen varios tipos de ultrasonicación o ultrasonido en uso para la extracción asistida por ultrasonido, con diferentes características como: sistema de sonda ultrasónica, baños de ultrasonido y las unidades experimentales diseñadas que pueden ser de sonicación directa o indirectamente, en todas estas tecnologías el tiempo requerido para alcanzar el equilibrio puede generarse de varias formas: calentamiento directo para mejorar el movimiento de la molécula y el uso de descargas eléctricas siendo esta última una técnica poco usada ya que perturba el estancamiento de capa (Vinatoru et al., 2017). Los efectos producidos por los ultrasonidos a través de un medio son diversos (líquido, gaseoso, supercrítico), de las variables de procesos (temperatura, presión, intensidad) y de la estructura del producto (Rodríguez Barran, 2014).

Estas ondas de ultrasonido luego de interactuar con el material vegetal afectan su propiedades fisicoquímicas y su efecto de cavitación facilita la liberación de los compuestos extraíbles favoreciendo el transporte de masa debido al rompimiento de las paredes celulares (Chemat et al., 2017). Las microburbujas de vapor que se crean debido a la cavitación se forman y explotan de forma violenta en una fracción de segundos (Pineda-Munoz et al., 2017). Las burbujas colapsadas generan espacios grandes, donde el cambio continuo de cualquier capa estancada es extremadamente rápido (Vinatoru et al., 2017). Las burbujas colapsadas actúan como pequeños golpes de martillo generando una difusión de compuestos extraíbles como se muestra en la Figura 8 (Chemat et al., 2017).

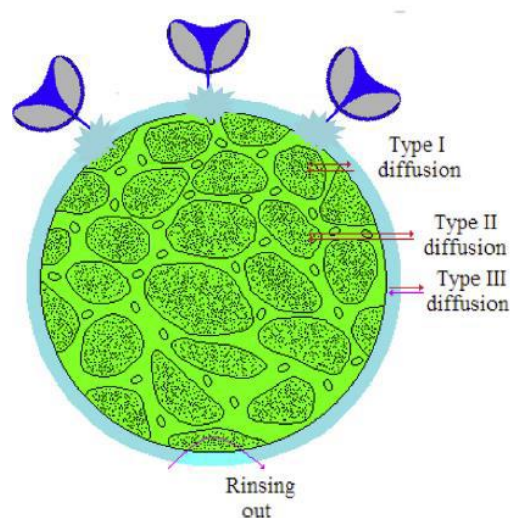


Figura 8. Posible mecanismo de difusión para EAU.

FUENTE: Vinatoru et al., (2017).

La elección apropiada de ultrasonido para realizar el proceso de extracción se debe tener en cuenta en medio (líquido, gaseoso, supercrítico), variables de procesos (temperatura, presión, intensidad) y la fuente considerando la marca del equipo, sus variaciones en el control de los parámetros frecuencia tiempo y potencia (Dzah et al., 2020; Rodríguez et al., 2014).

Recientemente, las extracciones innovadoras como la extracción por microondas y la extracción asistida por ultrasonido (EAU) han demostrado ser una alternativa viable a los procedimientos convencionales para la extracción de alcaloides bioactivos como *Stephania rotunda Lour* y *Stephania Dieica sínica* puesto que son más eficientes, más rápidas y amigables con el medio ambiente ya que utilizan menos disolventes tóxicos (Dary et al., 2017).

2.6. MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN

Existen tres métodos de cuantificación de alcaloides totales los cuales son: fotométrico, titrimétrico y para la determinación más precisa de alcaloides individuales es la cromatografía (Baer et al., 1979).

2.6.1. Cromatografía

Para obtener una cuantificación más precisa y concisa se usa la cromatografía de gases y de líquido combinado con un detector de espectrómetro de masas (Frick et al., 2017). La cromatografía es una técnica que permite separar, aislar e identificar los componentes de una mezcla de compuestos químicos, donde la muestra o analito es distribuida entre dos fases, una fase estacionaria y otra móvil de tal modo que cada uno de los componentes del analito es selectivamente retenido por la fase estacionaria (McNair et al., 1980). Permitiendo de esta manera la cuantificación de alcaloides del lupino (Wink, 1993). Esto se realiza principalmente 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, 1993). En la cromatografía de columna, la fase móvil puede ser líquido un gas, de acuerdo a ello se puede nombrar cromatografía líquida y cromatografía de gases, esta fase móvil fluye a través del relleno de la columna que está rellena de un sólido poroso finamente dividido, arrastrando de esta manera los componentes de la mezcla que son selectivamente retenidos por la fase estacionaria (McNair et al., 1980). De acuerdo con la naturaleza de las fases involucradas y los mecanismos de separación es posible diferenciar o distinguir los diferentes tipos de cromatografía.

- Cromatografía líquida de alta presión (HPLC)

La cromatografía líquida de alta presión (HPLC) es un principio de medida que permite separar los componentes del analito en dos fases: fase estacionaria (un sólido o un líquido adsorbido sobre un soporte sólido) y fase móvil (un líquido), una vez obtenidos los eluatos (separación de los analitos) y en función de sus propiedades fisicoquímicas estos pueden ser identificados o cuantificados (Rigo Bonnin et al., 2018). Uno de los métodos químicos más utilizados es el análisis de cromatografía, 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).

Los instrumentales propios de la cromatografía de alta presión tienen las características propias como son la de versatilidad, rapidez, reproducibilidad y estabilidad, y por último de sensibilidad (McNair et al., 1980). Utiliza un sistema instrumental automatizado incluye una columna, un contenedor de fase móvil (eluyente), una bomba de fase móvil, un inyector y un detector siendo controlado por un Software el cual registra el tiempo de retención, la altura de pico, el área de superficie de un pico, eficiencia del sistema, el ancho del pico, etc, y los perfiles cromatográficos. (Waksmundzka-Hajnos & Sherma, 2011).

- Cromatografía líquida 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 significativa en la HPLC moderna, donde establece un nuevo punto de referencia de rendimiento para separaciones con mayor rapidez, 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 & Guillaume, 2013).

2.6.2. Titulación

Para la cuantificación de alcaloides uno de los métodos más usados es la descrita en la norma técnica peruana (NTP 205.090:2018) de LEGUMINOSAS: Tarwi o chocho - Grano desamargado (INACAL, 2018). Donde se indica los requisitos fisicoquímicos y microbiológicos que debe cumplir el grano para el consumo humano hace referencia para la determinación de alcaloides teniendo en cuenta lo estudiado por von Baer et al., (1979), utilizando óxido de aluminio, hidróxido de potasio para luego pasar 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 1):

$$\% \text{ alcaloides} = \frac{V \text{ H}_2\text{SO}_4 \text{ gastado} \times 24.8 \times \text{factor de corrección}}{\text{masa de la muestra}} \dots\dots\dots (\text{ec. 1})$$

Dónde: 1 ml de H₂SO₄ 0.01N equivalen a 2.48 mg de lupanina.

2.7. ESPECTROSCOPIA DIELECTRICA DE MICROONDAS (MDS)

La espectroscopía dieléctrica es una técnica el cual describe las propiedades eléctricas de un flujo de fotones (partícula elemental que transmite la fuerza electromagnética) lo que genera interacciones eléctricas y magnéticas al atravesar un medio cualquiera, este efecto viene

definido por las relaciones de Maxwell, esta partícula de fotón al moverse genera o transmite una fuerza el cual se produce por la vibración transversal (eléctricas) y longitudinal (magnética) (José Velázquez-Varela, Fito Suñer, & Castro Giráldez, 2014), generando ondas electromagnéticas en un campo eléctrico y un campo magnético como se observa en la Figura 3 (Castro Giráldez, Fito Maupoey, Toldrá Vilardell, & Fito Suñer, 2010); el fotón como el gluon son partículas carentes de masa moviéndose a una velocidad máxima a la que se mueve una partícula, $3 \times 10^8 \text{m} \times \text{s}^{-1}$ el cual se consideran como bosones (partículas transmisoras de fuerza universal) porque no tiene interacción con el campo de Higgs (José Velázquez-Varela et al., 2014).

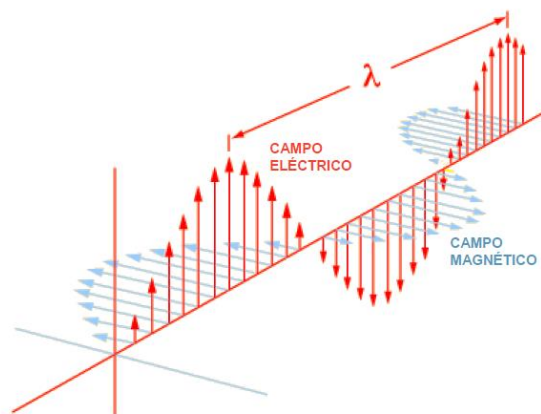


Figura 9. Onda electromagnética.

FUENTE: Castro Giráldez et al., (2010).

El nivel de flujo de las interacciones eléctricas de los fotones depende del nivel de flujo de energía, dividiéndose en dos mecanismos de interacción:

- a) Fotón con poca energía, siendo de orientación e inducción molecular puesto que tiene una vibración leve y una frecuencia de vibración baja (Hz-GHz), siendo su efecto sobre la materia leve y su interacción estará asociada a la resonancia de las ondas producidas por la vibración del fotón (José Velázquez-Varela et al., 2014).
- b) Fotón con mucha energía, se divide en dos tramos, donde el primero tramo los fotones colisionan con los electrones de valencia, aumentando su energía y por ende su orbital el segundo tramo la colisión se producirá a mayor energía lo que generará el desplazamiento de los electrones de valencia fuera del orbital dejando radicales libres en el medio, denominándose de esta manera la radiación como “irradiación”, lo que

hará que vibre con más intensidad a una elevada frecuencia (THz-ZHz) siendo el efecto sobre la materia mayor cuando mayor sea el nivel del flujo de fotones (José Velázquez-Varela et al., 2014).

En la Figura 10, se muestran las diferentes regiones del espectro electromagnético el cual se caracteriza por diferentes tipos de radiación en función de la longitud de onda y de la frecuencia (José Velázquez-Varela et al., 2014).

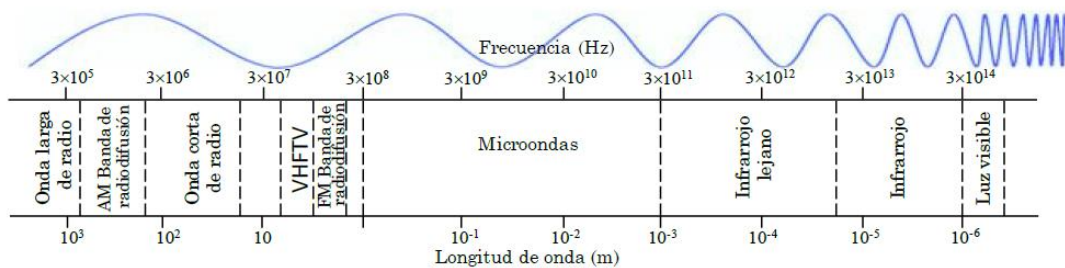


Figura 10. Esquema del espectro electromagnético.

FUENTE: José Velázquez-Varela et al., (2014).

El microondas se encuentra en medio de las ondas de radio de baja frecuencia, los infrarrojos y luz visible a altas frecuencias en el espectro electromagnético, comprendiendo un rango de longitud de onda desde los 3 m hasta 3 mm y un rango de frecuencia de 100 MHz a 100 GHz no siendo suficientes para romper los enlaces químicos o mover electrones por lo que forma parte de las radiaciones no ionizantes (Castro Giráldez et al., 2010).

En la espectroscopía dieléctrica por microondas (MDS) el espectro electromagnético que comprende la región de microondas es de 300 MHz a 300 GHz, utilizándose para las aplicaciones de calefacción, radar, entre otros, pero su aplicación se extiende aún más como analizar y diferenciar muestras electroquímicas en función a la frecuencia, conociéndose también como espectroscopía de impedancia. En el desarrollo de las investigaciones para obtener la calidad e inocuidad de los alimentos en la industria alimentaria se profundizado en gran medida el deseo de entender y optimizar el cómo procesar los materiales utilizando microondas para poder tener un control más eficaz de los compuestos contaminantes, biotóxicos y químicos en la elaboración de alimentos (Blakey & Morales-Partera, 2015).

2.7.1. Espectroscopía dieléctrica de microondas en alimentos

La espectroscopía dieléctrica surge con el fin de reemplazar los métodos tradicionales de análisis puesto que en la actualidad el control de calidad de los procesos en la industria alimentaría requiere y exige método no destructivos en los alimentos que sean rápidos precisos y no muy tediosos mejorando su eficiencia en el control de procesos, proporcionando información valiosa sobre los constituyentes y la estructura de los alimentos (M. Castro-Giráldez et al., 2012).

Normalmente en el alimento predominan los componentes que interaccionan con el campo eléctrico, asumiendo una permeabilidad igual a la del vacío $\mu_0 = \mu = 4\pi 10^{-7}$ H/m siendo posible despreciar el término magnético en este tipo de estudios (Castro Giráldez et al., 2010).

La permitividad compleja (ϵ_r) es la propiedad dieléctrica el cual describe el comportamiento de un alimento frente a la influencia de un campo electromagnético (M. Castro-Giráldez et al., 2012; Castro Giráldez et al., 2010), definiéndose por la siguiente ecuación:

$$\epsilon_r = \epsilon' - j\epsilon''$$

Donde en la ecuación anterior $j = \sqrt{-1}$, la parte real de la permitividad compleja se llama constante dieléctrica (ϵ') lo que refleja la capacidad del material para almacenar energía cuando el alimento está sometido a un campo eléctrico y la parte imaginaria de la permitividad se llama factor de pérdida (ϵ'') relacionada con la absorción y disipación de energía en otras formas de energía como la térmica, la interacción del campo magnético con los alimentos dentro del rango de microondas produce la γ -dispersión el cual está estrechamente relacionada con el contenido de agua y su movimiento (M. Castro-Giráldez et al., 2012; Castro Giráldez et al., 2010). Solo un dieléctrico perfecto puede almacenar y liberar la energía de las ondas sin absorberlas, siendo estas absorciones de energía son causadas por diferentes factores que dependen de la estructura composición y frecuencia de medición (Marta Castro-Giráldez, Fito, Chenoll, & Fito, 2010).

J. Velázquez-Varela, Castro-Giráldez, & Fito, (2013) menciona que la espectroscopía dieléctrica por microondas es una técnica no destructiva puesto que en los últimos años se han utilizado otras técnicas con el objetivo de mejorar la calidad final, recientemente este método como control de calidad de los alimentos o de productos se está aplicando en línea,

esta técnica de espectroscopía dieléctricas de microondas en la tecnología de los alimentos está teniendo un amplio uso como de controlar la deshidratación osmótica de manzanas y kiwis como también de determinar el contenido de sal en mantequilla, la maduración de las manzanas, detectar el suero desnaturalizado de proteínas, determinar las propiedades dieléctricas de un gel de proteínas de suero, una mezcla de proteínas de suero, la caracterización de bebidas alcohólicas, proceso de inflado de semillas de amaranto entre otros (M. Castro-Giráldez et al., 2012). Otros campos en donde se utiliza la espectroscopía dieléctrica es en la medicina, la industria farmacéutica y la ciencia de los materiales (J. Velázquez-Varela et al., 2013).

Otra investigación que resalta esta técnica como un método no destructivo, rápido y preciso es en la fermentación de la malta de cerveza por parte de la levadura en condiciones anaeróbicas mediante espectroscopía dieléctrica (J. Velázquez-Varela et al., 2013).

2.8. REQUISITOS ESPECÍFICOS DEL TARWI

2.8.1. Norma técnica peruana (NTP)

En la Norma Técnica Peruana (NTP) de tarwi o chocho mencionan los requisitos específicos que se deberá cumplir para el consumo humano, que se indica en la Tabla 5.

Tabla 5. Requisitos físicos químicos del tarwi o chocho desamargado

Requisitos	Unidad	Valor	Método de ensayo
Humedad producto fresco	%	máx. 75	AOAC 2001.12
Humedad producto deshidratado	%	máx. 15	AOAC 2001.12
Proteína (en base seca)	%	mín. 35	AOAC 2001.11
Alcaloide (en base seca)	%	0,02-0,07	Anexo A NTP 205.090

FUENTE: NORMA TÉCNICA PERUANA, LEGUMINOSAS. Tarwi o chocho. Grano desamargado. Requisitos y métodos de ensayo INACAL, (2018).

2.8.2. Norma técnica ecuatoriana

Las Normas Técnicas Ecuatorianas (NTE) indican algunos requisitos que el tarwi deberá cumplir a fin de considerarlo de consumo humano, mostrando porcentajes del contenido de alcaloides que se muestra en la Tabla 6.

Tabla 6. Composición química proximal del tarwi desamargado

REQUISITOS	UNIDAD	VALOR	MÉTODO DE ENSAYO
Humedad	%	72 – 75	INEN 1 235
Materia Seca	%	28 – 25	INEN 1 235
Proteína	%	50 – 52	AOAC 955.04
Grasa	%	19 – 24	AOAC 920.85
Fibra	%	7 – 9	AOAC 962.09
Cenizas	%	1,9 – 3,0	AOAC 942.05
ELN. (ver nota 1)	%	12,0 – 22,0	Por diferencia
Energía	cal/g	5 369 – 6 476	Aplicación de Ecuación
Alcaloides	%	0,02 - 0,07	Von Baer, D. y colaboradores. 1979(ver nota 2)

Nota 1: ELN. = Extracto Libre de Nitrógeno = $100 - [\text{fibra} + \text{proteína} + \text{grasa} + \text{cenizas}]$.

Nota 2: Método modificado por Vera, C., Escuela Politécnica Nacional, 1982, Quito.

FUENTE: Leguminosas grano desamargado de chocho requisitos INEN, (2015).

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 relación de los espectros dieléctricos y la cuantificación de lupanina por UHPLC validará el método no invasivo en las diferentes matrices de Tarwi (*Lupinus mutabilis*).

3.1.2. Hipótesis específicas

- Los espectros dieléctricos a diferentes concentraciones de la lupanina son válidos para el desarrollo del método de cuantificación.
- Los resultados de la cuantificación de lupanina por UHPLC tendrá relación con la cuantificación por espectroscopía dieléctrica para validar el método.

3.2. MATERIALES

3.2.1. Lugar de la ejecución

El trabajo de tesis se realizó en los siguientes laboratorios de investigación:

- Laboratorio de Físicoquímica y Cromatografía de la Escuela Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional de Juliaca sede Ayabacas – Juliaca.
- Laboratorio del Instituto de investigación del Mejoramiento productivo de la Universidad Nacional Autónoma de Chota.

3.2.2. Materia prima

Para la investigación en estudio se utilizó el ecotipo blanca de Yunguyo, la muestra de tarwi fue obtenida del banco de ecotipos de tarwi de la Universidad Nacional del Altiplano Puno de la facultad de Ingeniería Agronómica.

3.2.3. Materiales de laboratorio

- Termómetro digital (-50 – 300°C).
- Vasos de precipitado pirex (50 mL, 500 mL y 1000 mL) (Marca Boeco Germany).
- Pipetas graduadas (1 mL y 10 mL) (Marca Pirex).
- Micropipeta (100 – 1000µL) (Marca Bio-Rad).
- Micropipeta (10 – 100µL) (Marca Bio-Rad).
- Balanza (d=0.01g) (Marca Radwag WTC 2000).
- Digital Caliper o vernier (Marca STAINLESS HARDENED 0 – 150 mm).
- Tamiz (N°20 y 16) (Marca wstyler).
- Probeta graduada (100 mL) (Marca Isolab Germany).
- Probeta graduada (1000 mL) (Marca Isolab Germany).
- Tubos de ensayo (15 mL) (Marca Pirex).

- Mortero de porcelana con pistilo.
- Pera de decantación (125 mL) (Marca LB Germany).
- Soporte universal.
- Vortex mixer (Marca Kyntel).

3.2.4. Reactivos e insumos

- Agua destilada.
- Agua ultrapura.
- Ácido clorhídrico (HCL) 0.5 N.
- Hidróxido de amonio (NH₄OH) 25%.
- Diclorometano (CH₂Cl₂) (PM=84.93 g/mol).
- Metanol (CH₃OH) (PM=32.04 g/mol).
- Agua grado HPLC (H₂O) (PM=18 g/mol).
- Acetonitrilo grado HPLC (CH₃CN) (PM=41.05 g/mol).
- Ácido fosfórico grado HPLC (H₃PO₄) (PM=97.99 g/mol).
- Metanol grado HPLC (CH₃OH) (PM=32.04 g/mol).

3.2.5. Equipos

- Ultrasonic Bath (Bransonic Model M3800H-E, 110 w 40 Khz).
- Microondas (LG mod).
- 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 detector de espectrometría acoplado de masa-masa.
- Analizador de redes vectorial, modelo N 9915A - Keysight Technologies, conectado a una sonda coaxial de terminación abierta (N1501A-001).

3.3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

3.3.1. Validación del método no invasivo para el análisis de lupanina en el tarwi

a. Diseño experimental

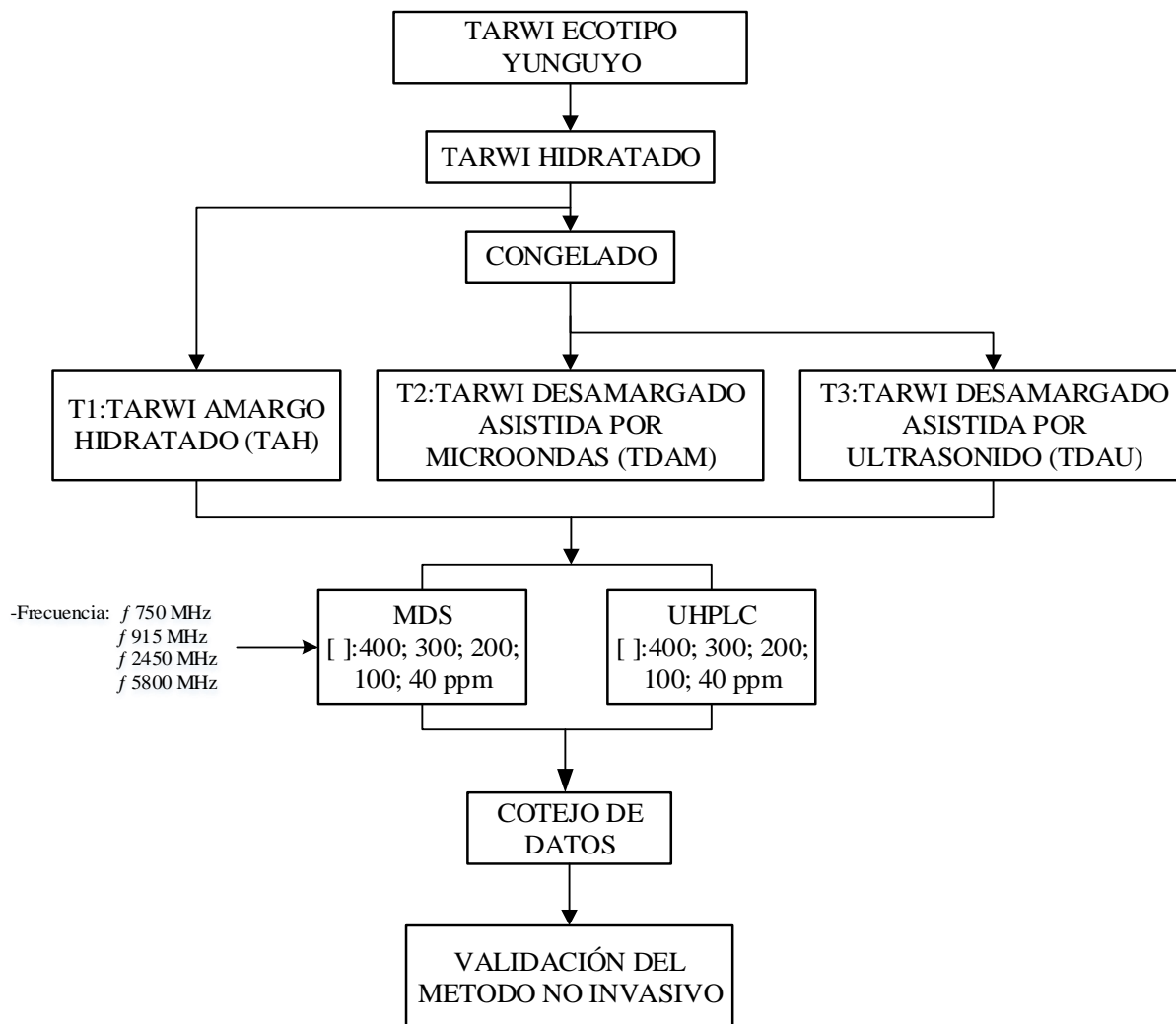


Figura 11. Diseño experimental del método no invasivo.

b. Preparación de la muestra

Los granos de tarwi fueron obtenidos del banco de ecotipos en Camacani de la Facultad de Ingeniería Agronómica de la Universidad Nacional del Altiplano.

- Tarwi hidratado

Para empezar con la preparación de la muestra se seleccionaron granos con estados de maduración completa y homogénea, para luego ser hidratados durante 24 horas a temperatura ambiente en la Figura 28 del Anexo 1, se muestra los granos de tarwi en proceso de hidratación, como también se muestra en la siguiente Figura 12.

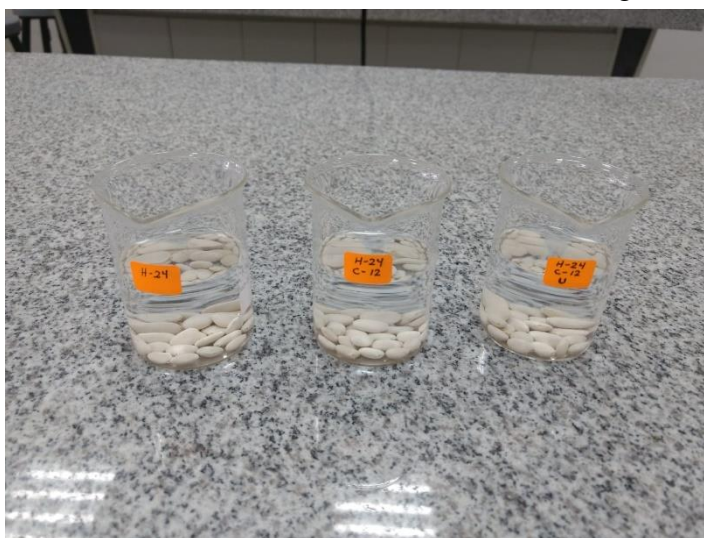


Figura 12. Hidratado de los granos de tarwi de maduración completa y homogénea.

- Congelación

Las muestras hidratadas se sometieron a congelación a (-18 °C a -20°C), en una congeladora con la capacidad para poder llegar a estas temperaturas, en las que se pusieron en recipientes con una cantidad de agua que cubra todas las semillas durante 2 días, en este caso se utilizó una proporción de 1:2 (p/v). Como se muestra en la Figura 13 y en la Figura 29 del Anexo 1.



Figura 13. Grano de tarwi congelado a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 2 días.

c. Desamargado asistida por microondas

Las muestras congeladas de los dos ecotipos, fueron introducidas al microondas con una relación de semilla (Tarwi) y agua (1:10) (p/v) que representa 298.839 g de tarwi aproximadamente frente a 2988.39 ml de agua destilada, como se muestra en la Figura 32 y 33 b del Anexo 1, se trabajó con una sola potencia al 70% que representa 630 W en un tiempo de 9 minutos.

d. Desamargado asistida por ultrasonido

La muestra que fue sometida al desamargado por ultrasonido fueron en una relación de 1:5 (p/v) lo que representa 298 g de tarwi en 1494.92 ml de agua destilada aproximadamente como se muestra en las Figuras 31 y 33a del Anexo 1, se trabajó con una potencia de 40 kHz: 100 W en un tiempo de 15 minutos.

e. Cuantificación de los alcaloides Quinolizidínicos

- Preparación de la muestra para la extracción de alcaloides

Para realizar la cuantificación de alcaloides primeramente se tuvo que realizar una extracción sólido-líquida del alcaloide pesando 1g de tarwi con tamaño de partícula $< 0,5\text{ mm}$ (Reinhard et al., 2006). De acuerdo a la metodología planteada por Wink, (1993), se homogenizó en 10 ml de HCl a 0.5 N, después de 30 min a temperatura ambiente, se centrifugó durante 10 min a 5000 rpm. El sobrenadante se alcalinizó con una solución de NH_4OH al 25 % o 4 M, hasta 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 los autores 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 detalla en la Tabla 7.

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 0.999 para la calibración con el estándar y los parámetros antes mencionados.

Tabla 7. Programación de la gradiente 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

- ***Cuantificación de alcaloides quinolizidinílicos en Cromatografía Líquida de Ultra Alta Resolución UHPLC***

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.

- ***Sistema de adquisición del espectro dieléctrico – Calibración Estándar***

Previamente para poder obtener las propiedades dieléctricas (constante dieléctrica - ϵ' y factor de pérdida dieléctrica - ϵ'') de la muestra del estándar de lupanina a diferentes concentraciones (400; 300; 200; 100; 40 ppm), se tuvo encendido el Analizador de redes vectoriales (VNA) por una hora aproximadamente para evitar la inestabilidad de señal entre el sensor y el equipo seguidamente calibrándose en secuencia de acuerdo como lo describen Liu & Guo, (2018) en tres pasos: calibración en sistema abierto utilizando el aire como medio, cortocircuito y agua bidestilada o ultrapura grado HPLC a 20°C como se muestra en la Figura 49 del Anexo 1. Posteriormente los valores del sistema dieléctrico del equipo fueron

configurados para su obtención en el rango de 750 a 5800 MHz, dividiéndose en 401 bandas con un ancho de banda de 1000 Hz a una potencia de salida de -10 dBm.

El sistema que se utilizó para la obtención de los espectros dieléctricos (las propiedades dieléctricas) fue una sonda coaxial de terminación abierta (N1501A-001) acoplado a un Analizador de redes vectorial (VNA) (N 9915A, Keysight Technologies), conectado a un ordenador portátil (Legion Y520, Lenovo), como se muestra en la Figura 14.

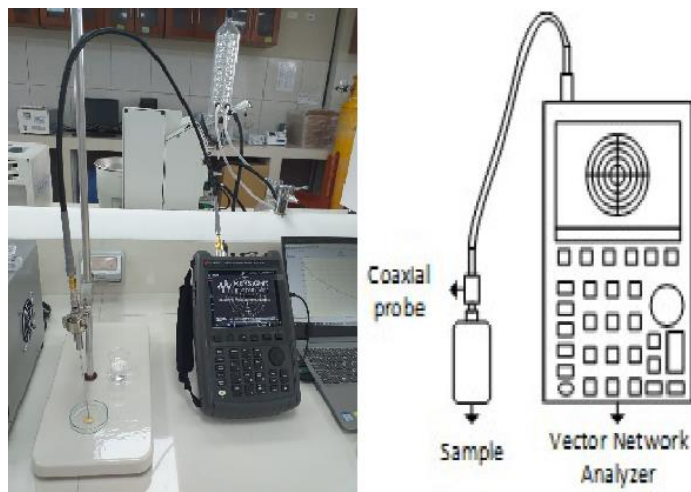


Figura 14. Sistema de adquisición de permitividad relativa para grano de tarwi, utilizando sonda coaxial de terminación abierta.

- ***Cuantificación de alcaloides quinolizidinílicos en Espectroscopía Dieléctrica De Microondas***

Para la cuantificación de los alcaloides quinolizidinílicos se analizaron 50 granos de tarwi parcialmente deshidratados de cada tratamiento, obteniéndose los valores de los coeficientes de reflexión obtenidos mediante la sonda coaxial de terminación abierta con la superficie de cada grano de Tarwi como lo explican Chuquizuta, Arteaga, & Yarleque, (2021), de esta manera calculando la constante dieléctrica y el factor de pérdida, para ello fue necesario utilizar el software de medición de materiales N1500A FG (Keysight Technologies) como se muestra en la Figura 51 del Anexo 1, se analizaron los tres tratamientos de los granos, el hidratado y los desamargados por ultrasonido y microondas.

f. Análisis estadístico

Para este trabajo de investigación experimental se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con el fin de determinar si existen diferencias significativas entre los tratamientos usados, igualmente se realizaron pruebas de comparación múltiple Tukey a fin de precisar las diferencias entre los tratamientos con un nivel de confianza del 95% y un análisis estadístico del Chi cuadrado para la validación del método dieléctrico, con los datos obtenidos de las concentraciones se realizó regresiones lineales para validar las calibraciones. Para la realización de los análisis estadísticos de los diseños experimentales se utilizó el software R-studio versión 4.0.2 (R Core, 2020).

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados están organizados de acuerdo a los objetivos planteados:

4.1. DETERMINACIÓN DE LOS ESPECTROS DIELECTRICOS A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE LA LUPANINA

Se realizó la determinación de los espectros dieléctricos en las concentraciones 40 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm teniendo los siguientes resultados:

4.1.1. Determinación de la curva de calibración de las propiedades dieléctricas

Pesamos 2.6 mg del patrón de lupanina obteniendo disoluciones acuosas para construir la curva de calibración del patrón estándar en los espectros dieléctricos de microondas con los datos de la lectura de las concentraciones 40 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 300 pm, 400 ppm, en cuatro frecuencias 750 MHz, 915 MHz, 2450 MHz, 5800 MHz, en un rango de 0.5 a 9.0 GHz y en un ancho de banda de 1000 Hz, logrando registrar dos R-square óptimas en las frecuencia de 750 MHz con un R-square de ($R^2 = 0.9633$) y 5800 MHz con un R-square de ($R^2 = 0.8731$) como se muestra en la Figura 15 y Tabla 8 y 9, las frecuencias con un R-square bajo fueron 915 MHz ($R^2 = 0.1778$) y 2450 MHz ($R^2 = 0.2038$) como se muestra en la Figura 16 y Tabla 8 y 9. son frecuencias establecidas para aplicaciones industriales de acuerdo a (Datta & Davidson, 2000).

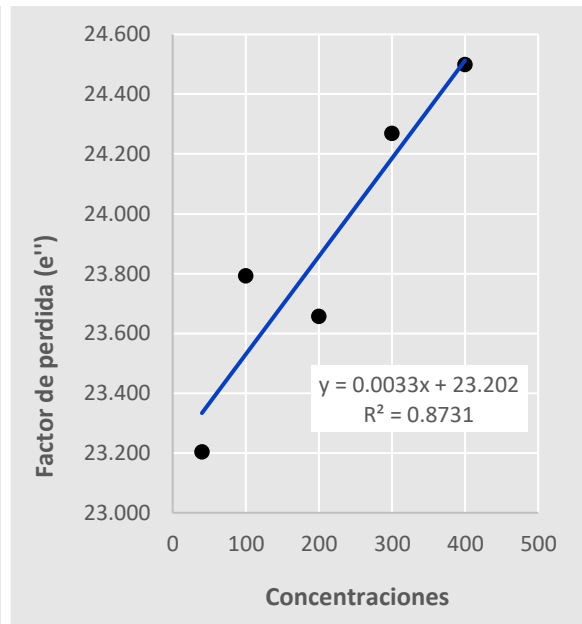
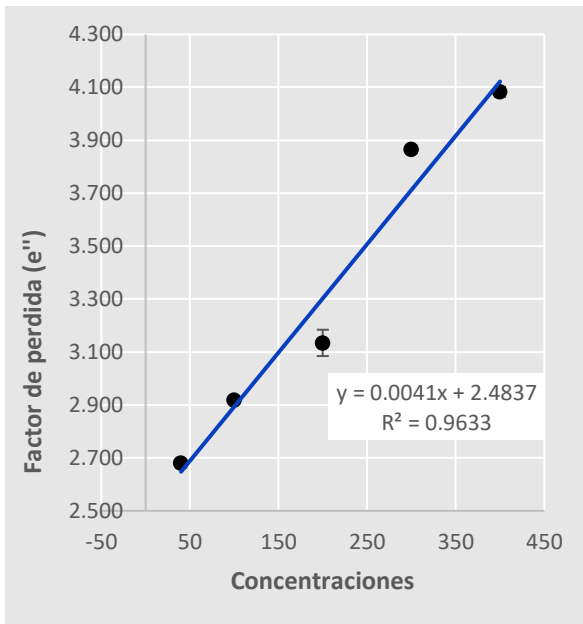


Figura 15. R-square de la lupanina de las frecuencias 750 MHz y 5800 MHz.

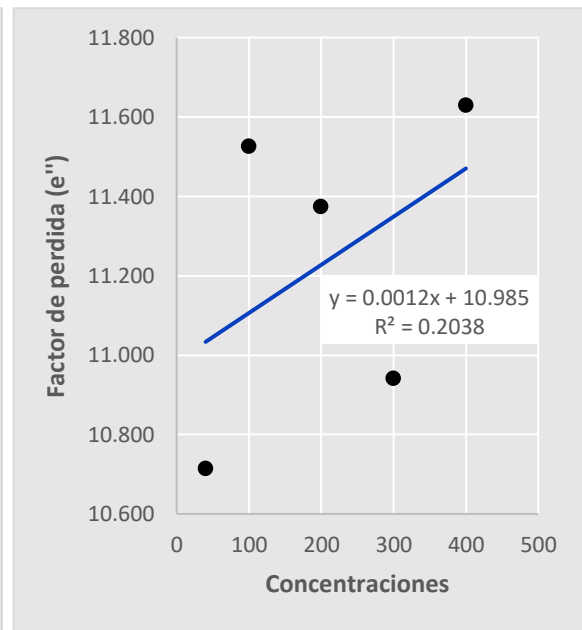
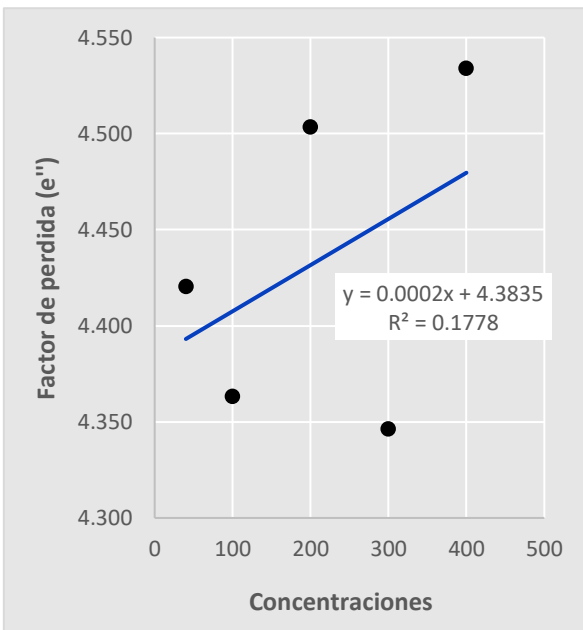


Figura 16. R-square de la lupanina de las frecuencias 915 MHz y 2450 MHz.

Los resultados de las correlaciones lineales óptimas obtenidas en la investigación Figura 15 se asemejan a los obtenidos en la investigación realizada por Velásquez et al., (2021), donde utilizó la espectroscopía dieléctrica para evaluar el efecto de la madurez y secado de la cereza del café, trabajando a una frecuencia de 0.3 GHz a 0.9 GHz obtuvo una correlación lineal de 0.82 y 0.88 para el contenido de humedad y actividad de agua, enfatizando también que el rendimientos de los modelos se da a 0.3 GHz. En la investigación realizada por Soltani Firouz et al., (2021) para la identificación y cuantificación de la adulteración de aceites de sésamo trabajó con un rango de frecuencias de 40 kHz a 20 MHz obteniendo una correlación lineal de 0.9604 y 0.9192.

Tabla 8. Calibración de las propiedades dieléctricas a diferentes concentraciones de lupanina

Concentración de Lupanina (ppm)	Factor de pérdida (e'')			
	750 MHz	915 MHz	2450 MHz	5800 MHz
400	4.083 ± 0.019	4.534 ± 0.016	11.629 ± 0.149	24.498 ± 0.129
300	3.864 ± 0.014	4.346 ± 0.013	10.941 ± 0.022	24.269 ± 0.072
200	3.134 ± 0.050	4.503 ± 0.050	11.375 ± 0.049	23.657 ± 0.187
100	2.917 ± 0.006	4.363 ± 0.007	11.526 ± 0.010	23.792 ± 0.039
40	2.679 ± 0.017	4.421 ± 0.022	10.715 ± 0.029	23.203 ± 0.063

En la Tabla 8, tenemos los resultados del promedio del factor de pérdidas de las concentraciones con las frecuencias de estudio y se puede observar que hay una tendencia creciente de acuerdo a las concentraciones en la frecuencia de 750 MHz y 5800 MHz, caso contrario pasa con las frecuencias 915MHz y 2450 MHz ya que se puede observar que no hay un orden creciente.

Es probable que en los resultados obtenidos en las frecuencias de 915 MHz, 2450 MHz con las correlaciones lineales bajas se pueden deber a que estas dos frecuencias son utilizadas normalmente para el procesamiento de alimentos por microondas como lo menciona Datta & Davidson, (2000), la frecuencia en 2450 MHz es utilizadas para hornos domésticos y ambas se emplean para el calentamiento industrial, se destaca también que en los Estados Unidos se utilizan frecuencias de 433.92 MHz, 896 MHz y 2375 MHz, sin embargo estas frecuencias no están asignadas por la Comisión Federal de Comunicaciones (FCC).

En la Tabla 9, se muestran los resultados de las correlaciones lineales con un buen rendimiento con respecto a las concentraciones del patrón estándar de lupanina en las frecuencias de 750 MHz teniendo el mejor resultado seguido de 5800 MHz. En la revisión realizada por Blakey & Morales-Partera, (2015) las mejores relaciones lineales estaban dentro del rango de 0.2 a 15 GHz, como muestra en la investigación realizada por McKeown, Trabelsi, Tollner, & Nelson, (2012) en la determinación de humedad en cebollas obtuvieron una función que permitió la predicción del contenido de humedad con una alta precisión ($R^2 = 0.93$) a una frecuencia de 502 MHz y ($R^2 = 0.99$) a una frecuencia de 13.360 GHz

Tabla 9. Ecuaciones y correlaciones lineales en 750 y 5800 MHz para ϵ'' frente a la concentración de lupanina

Frecuencia	Ecuación	R²
750 MHz	$y = 0.0041x + 2.4837$	0.9633
5800 MHz	$y = 0.0033x + 23.202$	0.8731

4.1.2. Obtención de los espectros dieléctricos a diferentes concentraciones de lupanina

Una vez realizado el análisis de las concentraciones por el método de espectroscopía dieléctrica de microondas se obtuvo los valores medios de los espectros dieléctricos como se muestra en la siguiente Figura 17. Según el gráfico se logra presenciar una diferencia entre las concentraciones tanto en el factor de pérdidas como en la constante dieléctricas, esto se debe a que el factor de pérdida (ϵ'') está más relacionado con los elementos de especies químicas y a la absorción y disipación de energía en otras formas de energía como puede ser la térmica de acuerdo a Castro Giráldez et al., (2010).

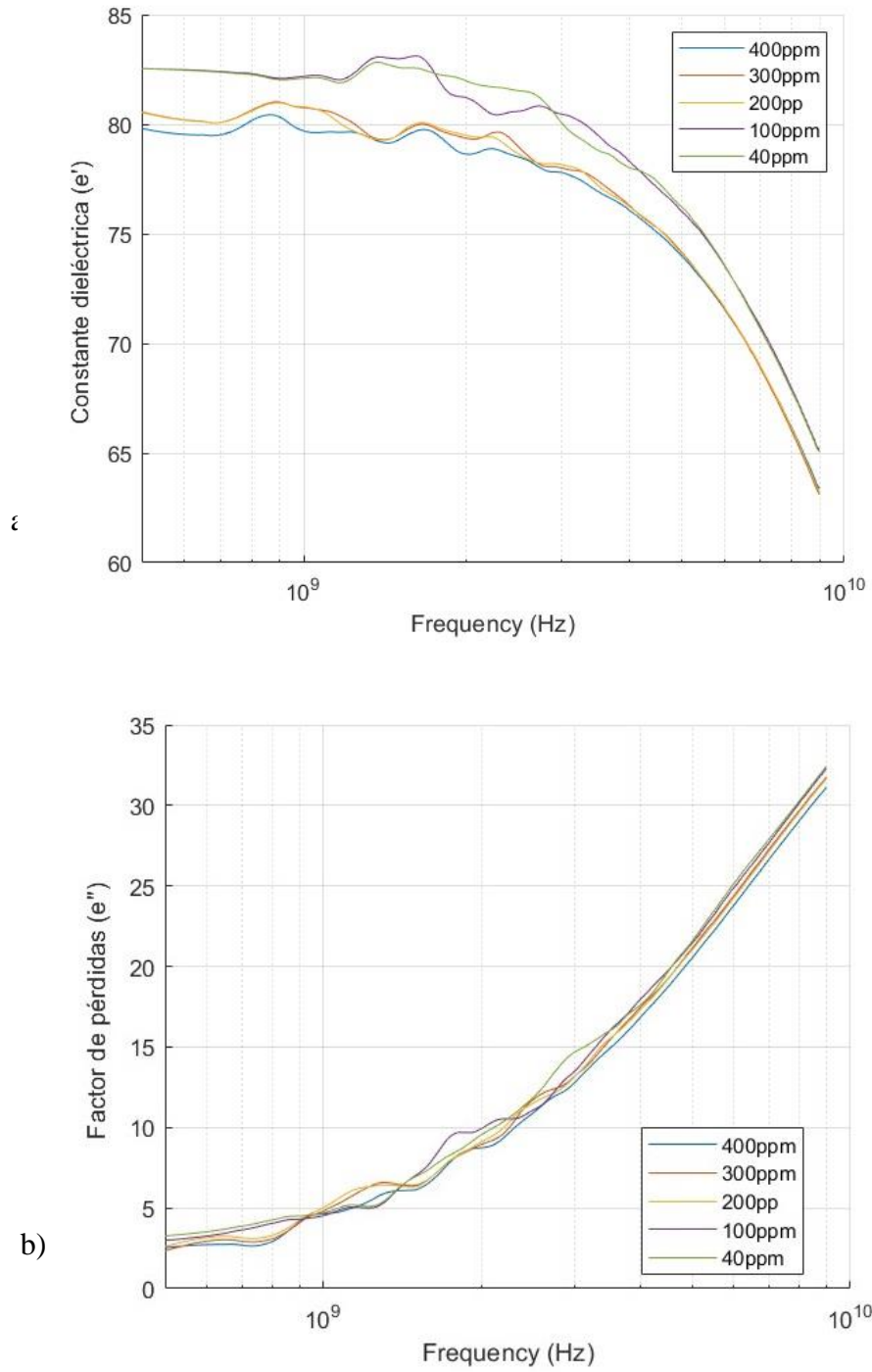


Figura 17. Espectro dieléctrico de las concentraciones de lupanina a) Constante dieléctrica. b) Factor de pérdidas.

4.2. VALIDACIÓN DEL MÉTODO NO INVASIVO DE CUANTIFICACIÓN DE LA LUPANINA EN DIFERENTES MATRICES POR ESPECTROSCOPIA DIELECTRICA DE MICROONDAS CON EL UHPLC

Luego de haber realizado la determinación de los espectros dieléctricos, se realizó la curva de calibración del UHPLC para poder analizar los tratamientos con los distintos tipos de extracción del alcaloide no convencionales en el grano de *Lupinus Mutabilis* hidratado por 24 horas, por microondas con una potencia de 630 W en un tiempo de 9 minutos y ultrasonido a una potencia de 40 kHz: 100 W en un tiempo de 15 minutos, se realizaron los análisis tanto el dieléctricas como en UHPLC, logrando la validación del método no invasivo.

4.2.1. Determinación de la curva de calibración en el UHPLC

Se obtuvo la curva de calibración a diferentes concentraciones en el UHPLC pesando 5 mg del patrón estándar de lupanina encontrándose la lupanina en un UV/vis 1 de 205 nm, con un volumen e inyección de 3 μ L, con un tiempo de retención de 4 minutos de la muestra, ubicándose la lupanina en 1.687 minutos como se observa en la Figura 18 y Tabla 10. Construimos la curva de calibración del patrón de la lupanina con los datos de la lectura de las soluciones de concentración 40 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm, lográndose registrar con un R-square de ($R^2 = 0.999$) como se observa en la Figura 19 y en la Figura 44 del Anexo 1.

En el estudio realizado por Ganzera et al., (2010) para la calibración en HPLC de cuatro alcaloides más predominantes del tarwi que fueron la lupanina, esparteína, angustifolina y 13-hidroxilupanina, teniendo más interés en la lupanina puesto que este alcaloide ocupa casi el 60% de la cantidad total de alcaloides se obtuvo un R-square de ($R^2 = 0.999$) siendo igual a lo obtenido en la investigación. De acuerdo a Dong, (2005), uno de los criterios de aceptación para la calibración del HPLC es que la R sea 0.999, siendo igual a lo obtenido, lo que indica que el procedimiento de la metodología para la calibración es ideal, sin embargo también los otros criterios de aceptación como el UV/Vis 251 ± 3 nm a 350 ± 3 nm² en comparación con el UV/vis que fue de 1 de 205 nm en donde se encontró la lupanina, esta variación de criterios se debe al tipo de compuesto que se está estudiando como lo menciona el mismo autor.

En la tesis Cinética de desamargado del tarwi (*Lupinus mutabilis*) por congelación acoplado con microondas y ultrasonido realizada por Yucra, (2020) obtuvo un R-square de ($R^2 = 0.988$) siendo inferior a lo que se obtuvo en esta investigación, esto se debe a que antes de realizar la cuantificación de la lupanina se eliminaron las burbujas de aire en los viales, optimizando en análisis del patrón estándar.

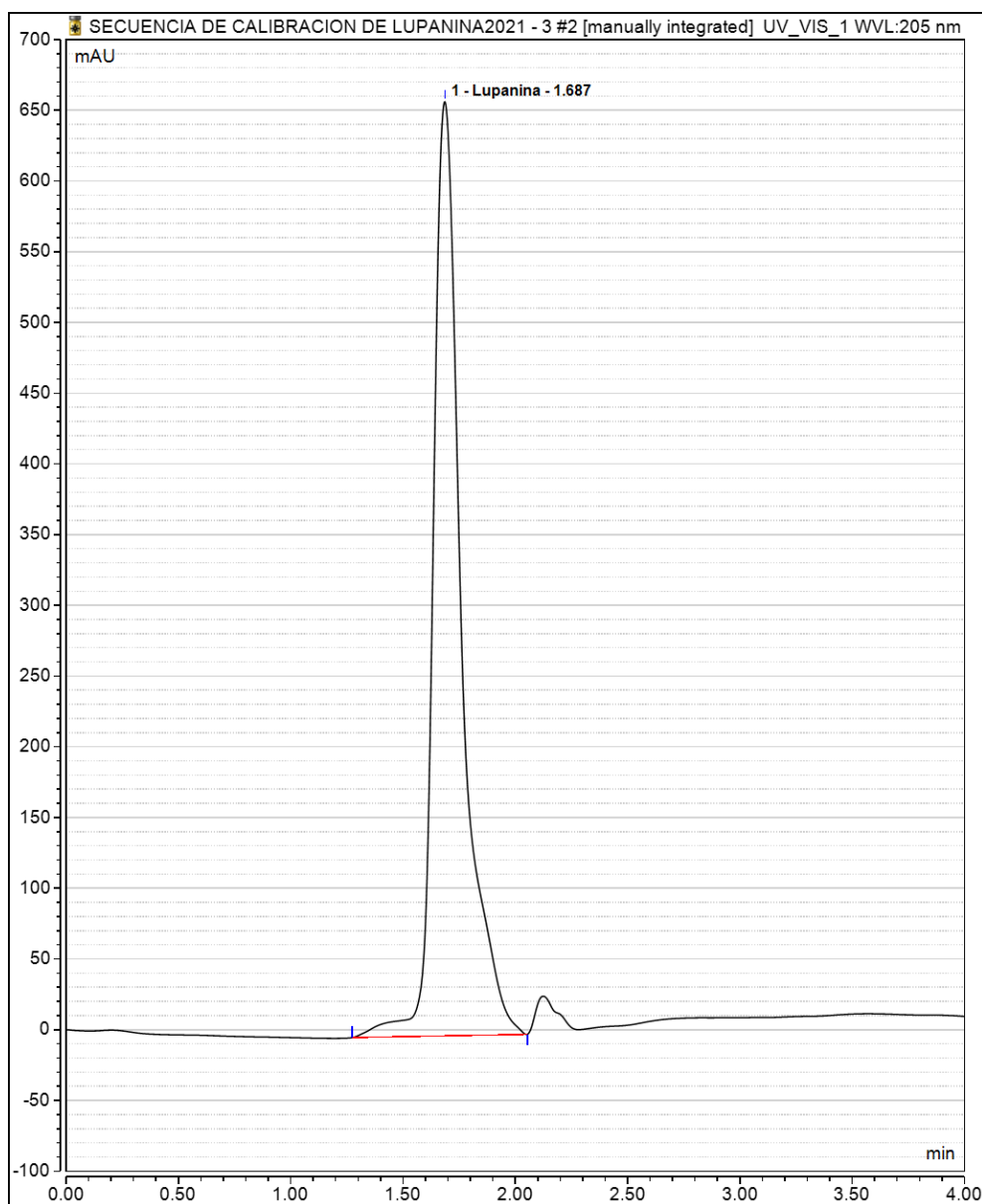


Figura 18. Cromatograma de la molécula de Lupanina.

Tabla 10. Datos de calibración con el estándar de la lupanina

No	Injection Name	Ret.Time	Área	Height	Amount	Rel. Área	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	LUPANINA40PPM	1.690	15.304	108.348	40.975	100.00	BMB
3	LUPANINA100PPM	1.730	28.797	221.901	100.036	100.00	BMB
4	LUPANINA200PPM	1.683	51.162	355.637	197.931	100.00	BMB
5	LUPANINA300PPM	1.683	74.599	538.015	300.517	100.00	BMB
6	LUPANINA400PPM	1.687	97.451	660.447	400.540	100.00	BMB

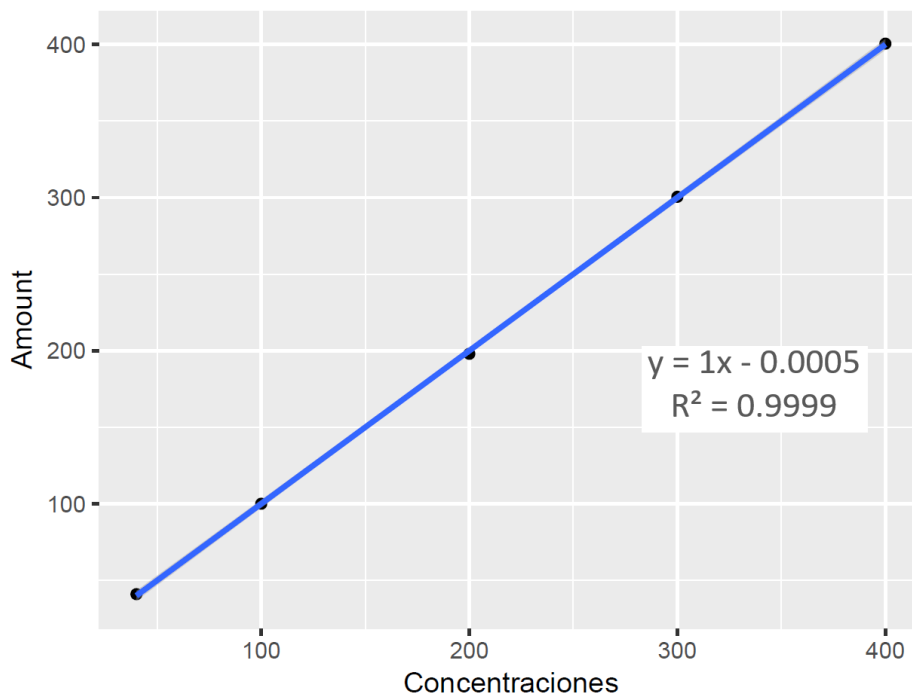


Figura 19. R-square de la lupanina en UHPLC.

Del ajuste de la regresión lineal para los datos de concentración en ppm del estándar de lupanina, se obtiene la ecuación de la curva de calibración para obtener la cantidad de lupanina en las muestras de tarwi con los tratamientos de desamargado.

$$Y = 1(X) - 0.0005$$

Donde:

Y = es la cantidad de lupanina leída

X = es la concentración de la muestra leída en ppm de lupanina

4.2.2. Cuantificación de la lupanina en los granos de tarwi por UHPLC

Luego de realizado el preparado de las muestras para sus concentraciones de alcaloides, los alcaloides eluidos por diclorometano fueron disueltos en 4 mL de metanol para luego ser filtrado por un filtro de membrana de 0.2 μm de porosidad logrando separar así los compuestos que pueden dañar la columna con el que se trabajó en este caso el C18 del UHPLC como se observa en las (Figuras 40 y 41 del Anexo 1), en la siguiente tabla se observa las cantidades de lupanina en cada tratamiento.

Tabla 11. Cantidad de lupanina en el grano de tarwi por cada tratamiento

Tratamiento	Amount
	UV_VIS_1
	Lupanina
TAH	478.870 \pm 105.647
TDAM	333.552 \pm 20.379
TDAU	594.576 \pm 51.221

Como se puede observar en la Tabla 11, la cantidad de lupanina en cada tratamiento varía, donde en la extracción del alcaloide asistido por microondas (TDAM) fue el tratamiento el cual tuvo mayor efectividad de extracción de la lupanina en comparación de las demás, siendo ligeramente similar a los resultados obtenidos por Cortés-Avenida et al., (2020), el cual cuantificó la cantidad de lupanina del varios ecotipos incluyendo el ecotipo Yunguyo el cual es el ecotipo en estudio para la validación de este trabajo de investigación. En la Figura 20, se muestra la comparación de medias de los tratamientos de desamargado del grano de tarwi, donde podemos observar que los tratamientos TAH y TDAU son ligeramente similares, a comparación del tratamiento TDAM que es distinto y se ve reflejado en la cuantificación realizada por UHPLC que se muestra en la Tabla 11.

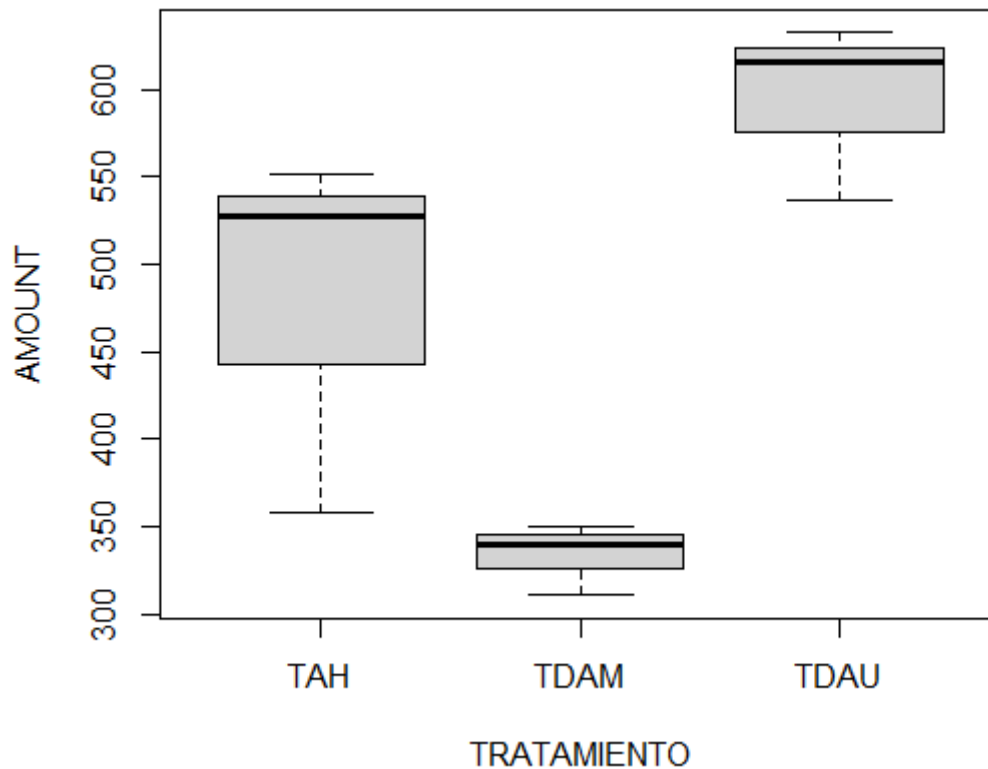


Figura 20. Comparación de medias de los tratamientos en la cuantificación de lupanina por UHPLC.

De acuerdo a los análisis de varianza (Anexo 3, Tabla 25) se observa que existe diferencias significativas $p < 0.05$ entre los tres tratamientos (TAH, TDAM, TDAU), representando así que la mejor técnica de extracción de lupanina es la realizada por el tratamiento de desamargado asistido por microondas por lo cual es el tratamiento que menos cantidad de lupanina se encontró en el grano de tarwi. Para evaluar esta comparación se realizó una prueba de comparación múltiple de test de Tukey (Anexo 3, Tabla 26) mostrándonos que el tratamiento TDAM presenta mayor diferencia, con respecto al tratamiento TDAU muestra que existe una ligera similitud con el tratamiento TAH con relación a la cuantificación de lupanina.

Estos resultados se pueden comparar con la investigación realizado por Yucra, (2020), donde los resultados obtenidos en cada tratamiento de extracción de lupanina con microondas y ultrasonido son similares a los obtenidos en esta investigación siendo el tratamiento por microondas el mejor tratamiento con los mejores resultados de extracción, siendo la potencia de 630 W por un tiempo de 9 minutos la que mejor difusividad tuvo y siendo esta la que se empleó en esta investigación, de acuerdo con Akhtar et al., (2019) este menciona que a altas potencias con exposición prolongada conlleva el riesgo de degradación térmica, lo cual es la

ruptura repentina de las células, causando un aumento en la cantidad de extracto, lo que explica porque el tratamiento por microondas es el más eficaz, sin embargo Xiong et al., (2016) menciona que no se tiene que descuidar los rangos de extracción de la potencia y tiempo ya que pueden dañar la estructura de los componentes en el alimento por lo tanto limitar su extracción.

El resultado en la cuantificación de la lupanina extraída por el tratamiento de desamargado por ultrasonido se puede deber a que la potencia registrada del generador de la energía acústica o poder ultrasónico, se presenta en forma calorimétrica como lo describe Vinatoru et al., (2017) por lo que se presenta como una desventaja ya que la potencia generada que entra realmente a la mezcla de extracción no es del todo clara.

De acuerdo a la 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 siendo necesarios superar los 20 min para que se rompa más las paredes celulares, en la investigación realizada, la potencia que utilizamos para el desamargado del grano de tarwi fue de 40 kHz con 100 W en un tiempo de 15 minutos pudiendo repercutir de alguna manera en la extracción de lupanina por ende su cuantificación.

4.2.3. Cuantificación de la lupanina por espectroscopía dieléctrica de microondas (MDS) -Propiedades dieléctricas

Para poder obtener los espectros dieléctricos se tuvo que analizar 50 granos de tarwi respectivamente desamargados con los tratamientos no convencionales donde se obtuvo el factor de pérdida dieléctrica (ϵ'') teniendo como resultado un espectro dieléctrico como se ve en la Figura 20 el cual nos muestra un diferencia entre los tratamientos TDAM y TDAU y una ligera variación con el tratamiento TAH y TDAM, las frecuencias de análisis fueron 750 MHz, 915 MHz, 2450 MHz, 5800 MHz en un rango de 0.5 a 9 GHz como lo describe Chuquizuta et al., (2021).

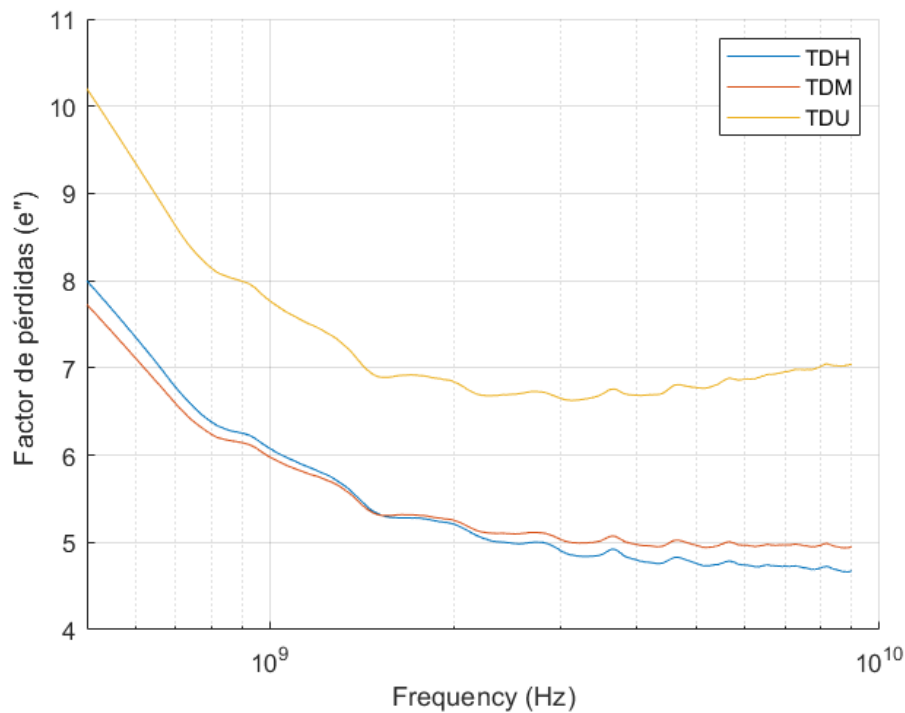


Figura 21. Espectro dieléctrico del tarwi con diferentes tratamientos de desamargado.

En la Figura 21 se presenta el factor de pérdidas de las muestras en función de la frecuencia. El factor de pérdidas del grano de tarwi presentó valores bajos para las muestras con tratamientos de deshidratado esto se debe a que no tiene una buena carga electrolítica. De acuerdo a Marta Castro-Giráldez et al., (2010) en su investigación menciona que las moléculas de azúcar producen una disminución de los espectros de la constante dieléctrica y del factor de pérdida del agua pura en frecuencias de dispersión polar, y esto se debía a que las moléculas de azúcar formaban enlaces de hidrógeno con los dipolos del agua y por lo tanto limita su movimiento y disminuye su capacidad de polarización, por lo que la dispersión dipolar se desplaza a frecuencias menores del espectro.

Tabla 12. Cantidad de lupanina en el grano de tarwi por Espectroscopía dieléctrica de microondas en cada tratamiento

Tratamiento	Factor de pérdidas (e'')			
	750 MHz	915 MHz	2450 MHz	5800 MHz
TAH	981.67 ± 260.19	9217.55 ± 5053.20	-4977.88 ± 712.63	-5587.66 ± 258.41
TDAM	943.26 ± 278.69	8720.46±5423.23	-4884.54 ± 733.12	-5521.19 ± 265.38
TDAU	1418.37 ± 339.25	17925.51 ± 6591.37	-3562.38 ± 917.11	-4949.86 ± 348.97

Como se puede observar en la Tabla 12, la cantidad de lupanina vuelve a variar en cada tratamiento, donde se evidencia que en la extracción de alcaloide asistido por microondas (TDAM) fue el tratamiento el cual tuvo mayor efectividad de extracción de la lupanina, esto se puede deber también por la sinergia que se genera de los solventes con el microondas ya que los mecanismos de transferencia de calor y masa salen en el mismo sentido opuesto a las técnicas de extracción convencionales, debido a los cambios en la estructura celular causada por ondas electromagnéticas (Rosa, Ferrari, & Veronesi, 2018).

En la Figura 22, se muestra la gráfica de caja y bigote de la comparación de medias de los tratamientos de desamargado de los granos de tarwi a la frecuencia de 750 MHz, donde se observa nuevamente que los tratamientos TAH y TDAU son ligeramente similares, a comparación del tratamiento TDAM que es distinto lo que indica que hay mayor cantidad de lupanina en el grano en comparación a los otros tratamientos, se observa lo mismo con los resultados obtenidos a la frecuencia de 5800 MHz (Figura 23), con la diferencia que los datos son negativos, lo que indica que a esa frecuencia la cantidad de lupanina en los granos de tarwi es nula, viéndose reflejado en la cuantificación de lupanina en el grano por espectroscopía dieléctrica de microondas que se muestra en la Tabla 12.

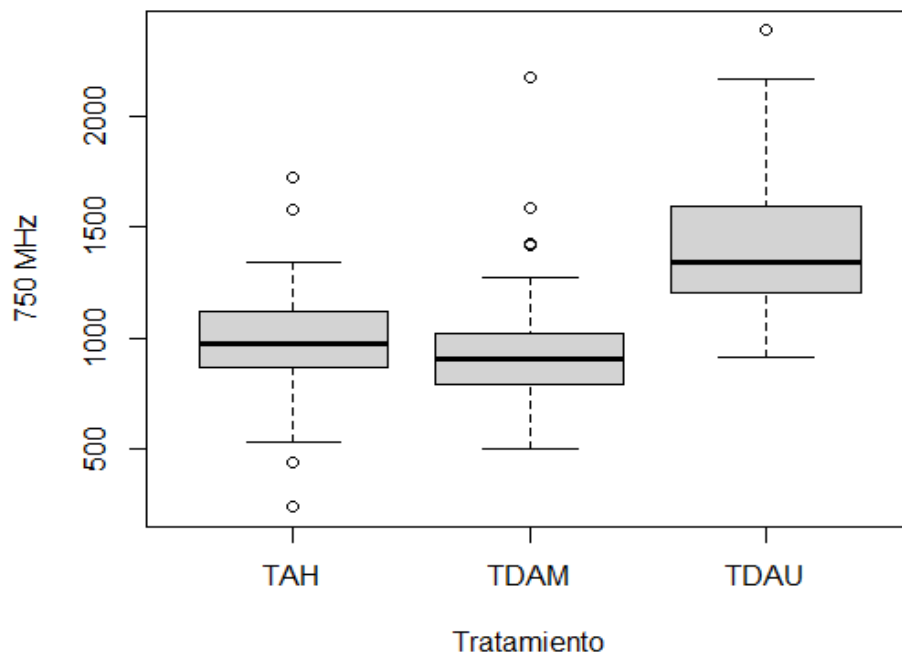


Figura 22. Comparación de medias de los tratamientos en la cuantificación de lupanina por espectroscopía dieléctrica a 750 MHz.

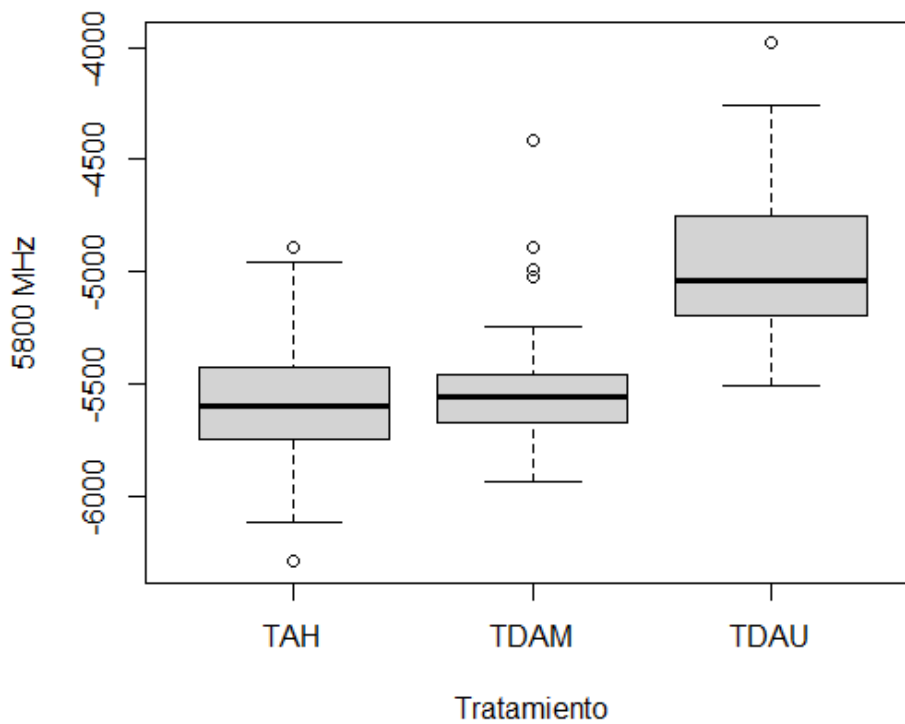


Figura 23. Comparación de medias de los tratamientos en la cuantificación de lupanina por espectroscopía dieléctrica a 5800MHz.

Esta comparación de medias entre los métodos, de acuerdo al análisis de varianza en la frecuencia de 750 MHz (Anexo 3, Tabla 27) se observa que existe diferencias significativas $p < 0.05$ entre los tratamientos (TAH, TDAM, TDAU), corroborando que la mejor técnica de extracción de lupanina es la realizada por el tratamiento de desamargado asistido por microondas. Para evaluar mejor estas comparaciones se realizó una prueba de comparación múltiple de test de Tukey (Anexo 3, Tabla 28) mostrándonos que los tratamientos TDAM y TAH tienen similitud respecto al tratamiento TDAU. En el análisis de varianza en la frecuencia de 5800 MHz (Anexo 3, Tabla 29) se vuelve a observar que si existe diferencias significativas $p < 0.05$ entre los tres tratamientos, de la misma manera en la prueba de comparación múltiple de test de Tukey (Anexo 3, Tabla 30) los tratamientos TDAM y TAH tienen similitud respecto al tratamiento TDAU que si presenta diferencia con relación a la cuantificación de lupanina.

4.2.4. Validación del método no invasivo

Para la validación del método se optó por realizar el chi cuadrado para ver si hay relación entre los resultados de cuantificación por UHPLC y espectroscopía dieléctricas de microondas (MDS), trabajando con las dos frecuencias óptimas para el desarrollo de la cuantificación de lupanina que son 750 MHz y 5800 MHz, con un margen de error del 5%, los resultados obtenidos se muestran en la siguiente Tabla 13.

Tabla 13. Validación del método

750 MHz			5800 MHz		
x-square	df	p-value	x-square	df	p-value
14.521	2	0.0007028	-	2	inf

De acuerdo a los resultados se puede validar el método con el empleo de la frecuencia de 750 MHz ya que los resultados en la cuantificación de la lupanina en los granos de tarwi se relacionan significativamente ($P < 0.05$) con los obtenidos por el UHPLC, a comparación de la frecuencia de 5800 MHz ya que sus resultados de cuantificación se alejaban con los obtenidos por el UHPLC tal como se aprecian en las Tablas 11 y 12.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos es posible concluir que:

- Las frecuencias óptimas de los espectros dieléctricos de microondas a diferentes concentraciones del patrón estándar de lupanina, determinado a través de una correlación lineal, fueron las frecuencias de 750 MHz y 5800 MHz con una correlación lineal R^2 de 0.9633 y 0.8731, ubicándose estas frecuencias dentro de un rango de 0.5 a 9.0 GHz, demostrando que existe una correlación entre las propiedades dieléctricas y la lupanina, sin embargo, las regresiones lineales en las frecuencias de 950 MHz y 2450 MHz no fueron prometedoras ya que son más de uso industrial. Además, con la obtención de la ecuación de la curva de calibración se podrá cuantificar la lupanina dentro del grano de tarwi mediante los espectros dieléctricos de microondas.
- Las cantidades obtenidas de la lupanina en los granos de tarwi en las diferentes matrices de tratamiento por UHPLC logró validar el método no invasivo de cuantificación por espectroscopía dieléctrica de microondas en la frecuencia de 750 MHz demostrando que existe una relación significativa ($P < 0.05$) con los resultados del cromatógrafo. Por otro lado, también se pudo observar que la cuantificación de lupanina decae a frecuencias superiores a 1000 MHz, como es el caso de la frecuencia de 5800 MHz que a pesar de tener una relación lineal relativamente buena en su cuantificación mostraba cantidades nulas de lupanina en los granos de tarwi.

Se concluye que la mejor frecuencia para cuantificar la lupina en el grano de tarwi por el método de espectroscopía dieléctrica de microondas es la de 750 MHz, siendo la primera vez que se realiza análisis de espectroscopía dieléctrica de microondas en tarwi comparado con una molécula en particular que es la lupanina.

5.2. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar más investigaciones con el método de espectroscopía dieléctrica de microondas ya que ha mostrado ser una herramienta simple y económica teniendo la capacidad aceptable para detectar impurezas.
- Se recomienda realizar trabajos de investigación más profundos y más detallados con mayor cantidad de concentraciones y de la misma manera trabajar con frecuencias igual o menores a 750 MHz.
- Se recomienda evaluar qué efectos pueden generar los tratamientos de desamargado en la composición intracelular del grano de tarwi.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbas, O., Dardenne, P., & Baeten, V. (2012). Near-Infrared, Mid-Infrared, and Raman Spectroscopy. In *Chemical Analysis of Food: Techniques and Applications*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384862-8.00003-0>
- Aguero Aguilar, S. D. (2012). *SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE Lupinus mutabilis Sweet "chocho" EN TERRAZAS Y LADERAS CON FERTILIZACIÓN FOSFATADA EN CAJAMARCA*. Universidad Nacional Agraria la Molina.
- Aguilar Angulo, L. A. (2015). *Evaluación del rendimiento del Grano y Capacidad simbiótica de once accesiones de Tarwi (Lupinus Mutabilis Sweet), bajo condiciones de Otuzco la Libertad*. Universidad Nacional Agraria la Molina.
- Akhtar, I., Javad, S., Yousaf, Z., Iqbal, S., & Jabeen, K. (2019). Microwave assisted extraction of phytochemicals an efficient and modern approach for botanicals and pharmaceuticals. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 32(1), 223–230.
- 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>
- Blakey, R. T., & Morales-Partera, A. M. (2015). Microwave dielectric spectroscopy – A versatile methodology for online, non-destructive food analysis, monitoring and process control. *Engineering in Agriculture, Environment and Food*, 9(3), 264–273. <https://doi.org/10.1016/j.eaef.2016.02.001>
- 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. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(9), 1454–1487. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.772089>
- Castro-Giráldez, M., Fito, P. J., Prieto, J. M., Andrés, A., & Fito, P. (2012). Study of the puffing process of amaranth seeds by dielectric spectroscopy. *Journal of Food Engineering*, 110(2), 298–304. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.04.012>
- Castro-Giráldez, Marta, Fito, P. J., Chenoll, C., & Fito, P. (2010). Development of a dielectric spectroscopy technique for determining key chemical components of apple

- maturity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(6), 3761–3766. <https://doi.org/10.1021/jf903338b>
- Castro Giráldez, M., Fito Maupoey, P., Toldrá Vilardell, F., & Fito Suñer, P. J. (2010). *Estudio de los espectros dieléctricos para el control de calidad de alimentos* (Universidad Politécnica de Valencia). Retrieved from <http://www.tesisenred.net/handle/10803/22523>
- Chemat, F., Rombaut, N., Meullemiestre, A., Turk, M., Perino, S., Fabiano-Tixier, A. S., & Abert-Vian, M. (2017). Review of Green Food Processing techniques. Preservation, transformation, and extraction. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 41, 357–377. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.04.016>
- Chirinos-Arias, M. C. (2015). Tarwi (*Lupinus mutabilis Sweet*) una planta con potencial nutritivo y medicinal. *Revista Bio Ciencias* [Http://Revistabiociencias.Uan.Edu.Mx](http://Revistabiociencias.Uan.Edu.Mx), 3(3), 163–172.
- Chirinos-arias, M. C., Jiménez, J. E., & Vilca-machaca, L. S. (2015). Analysis of Genetic Variability among thirty accessions of Andean Lupin (*Lupinus mutabilis Sweet*) using ISSR molecular markers. *Scientia Agropecuaria*, 6(1), 17–30. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2015.01.02>
- Chuquizuta, T., Arteaga, H., & Yarleque, M. (2021). Dielectric Spectral Profiles For Andean Tubers Classification : A Machine Learning Techniques Application. *International Conference on Electromagnetics in Advanced Applications (ICEAA)*, 6. Chota.
- 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 Debittering Process. *Plant Foods for Human Nutrition*, 75(2), 184–191. <https://doi.org/10.1007/s11130-020-00799-y>
- 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>
- Datta, A. K., & Davidson, P. M. (2000). Microwave and radio frequency processing. *Journal of Food Science*, Vol. 65, pp. 32–41. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2000.tb00616.x>

- Dong, M. W. (2005). HPLC system calibration for GMP compliance. *Separation Science and Technology*, 6(C), 291–301. [https://doi.org/10.1016/S0149-6395\(05\)80055-8](https://doi.org/10.1016/S0149-6395(05)80055-8)
- Dong, M. W., & Guillarme, D. (2013). Newer developments in HPLC impacting pharmaceutical analysis: A brief review. *American Pharmaceutical Review*, 16(4).
- Dzah, C. S., Duan, Y., Zhang, H., Wen, C., Zhang, J., Chen, G., & Ma, H. (2020). The effects of ultrasound assisted extraction on yield, antioxidant, anticancer and antimicrobial activity of polyphenol extracts: A review. *Food Bioscience*, 35, 100547. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100547>
- Eastwood, R. J., & Hughes, C. E. (2008). Origins of domestication of *Lupinus mutabilis* in the Andes. *'Lupins for Health and Wealth' Proceedings 12th International Lupin Conference*, (August), 14–18.
- Espejo Flores, L. Y. (2017). *Desarrollo del proceso común de desamargado de Lupinus Mutabilis (Tarwi) en condiciones controladas físicas y químicas*. Universidad Mayor de San Andres.
- 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*, 8(JANUARY), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00087>
- Galek, R., Sawicka-Sienkiewicz, E., Zalewski, D., Stawiński, S., & Sychała, K. (2017). Searching for low alkaloid forms in the Andean lupin (*Lupinus mutabilis*) collection. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 53(2), 55–62. <https://doi.org/10.17221/71/2016-CJGPB>
- Ganzera, M., Krüger, A., & Wink, M. (2010). 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>
- Garay Canales, O. B., Felix Huanca, F., & Huanay Lorenzo, P. (2015, March). El tarwi alternativa para la lucha contra la desnutrición infantil. *Instituto Nacional de Innovación Agraria-INIA*, p. 64. Retrieved from www.inia.gob.pe
- Götz, N. (2014). *Entwicklung und Etablierung einer Methode für die zerstörungsfreie*

- Bestimmung des Alkaloidgehaltes im Samen der Blauen Lupine (lat .: Lupinus angustifolius L .). University of Applied Sciences Hochschule Neubrandenburg.*
- Gross, R., y. Von Baer, F. (1988). Chemical composition of a new variety of the Andean lupinu (*Lupinus mutabilis* L.) with low alkaloid content. *Journal of Food Composition and Analysis*, (1), 353-361.
- Gutiérrez, A., Infantes, M., Pascual, G., & Zamora, J. (2016). Assessment of the factors in the debittering of tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet). *Agroind Sci*, 6, 145–149.
- Hatzold, T., Elmadfa, I., Gross, R., Wink, M., & Hartmann, T. (1983). Quinolizidine Alkaloids in Seeds of *Lupinus mutabilis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 31(5), 934–938. <https://doi.org/10.1021/jf00119a003>
- INACAL. (2018). *LEGUMINOSAS. Tarwi o chocho. Grano desamargado. Requisitos y método de ensayo* (1st ed., Vol. 1; INACAL, Ed.). Lima - Perú.
- INDECOPI. (2017). *Tarwi*. 12.
- INEN. (2015). *Norma Técnica Ecuatoriana INEN-ISO 13366-1 IDF 148-1*.
- Islam, S., & Ma, W. (2016). Lupine. In *Encyclopedia of Food and Health* (pp. 579–585). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00432-3>
- Jacobsen, S., & Mujica, A. (2006). El tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet.) y sus parientes silvestres. *Botánica Económica de Los Andes Centrales*, 25.
- Kalamiotis, A., Ilchev, A., Irvine, D. J., & Dimitrakis, G. (2019). Optimised use of dielectric spectroscopy at microwave frequencies for direct online monitoring of polymerisation reactions. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 290(March), 34–40. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.03.120>
- Kapoore, R., Butler, T., Pandhal, J., & Vaidyanathan, S. (2018). Microwave-Assisted Extraction for Microalgae: From Biofuels to Biorefinery. *Biology*, 7(1), 18. <https://doi.org/10.3390/biology7010018>
- Kole, Chittaranja. (2011). Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources. In Chittaranja Kole (Ed.), *Springer* (Springer). Retrieved from <http://link.springer.com/content/pdf/10.1007/978-3-642-14387-8.pdf>
- 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(3), 1090–1097. <https://doi.org/10.1021/jf000116e>
- Liu, D., & Guo, W. (2018). Nondestructive determination of soluble solids content of persimmons by using dielectric spectroscopy. *International Journal of Food Properties*, 20(3), S2596–S2611. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1381114>
- 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 and Products*, 95, 286–295. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.10.033>
- McKeown, M. S., Trabelsi, S., Tollner, E. W., & Nelson, S. O. (2012). Dielectric spectroscopy measurements for moisture prediction in *Vidalia* onions. *Journal of Food Engineering*, 111(3), 505–510. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.02.034>
- Mercado, G. (2018). *Los caminos del tarwi y la integración andina: Bolivia, Perú y Ecuador* (Vol. 148). Sopocachi.
- Mujica, A., Chura, E., & Moscoso, G. (2021). Selección de cultivares de tarwi (*lupinus mutabilis* sweet.) Por rendimiento, precocidad, contenido de aceite y proteína en Puno, Perú. In A. Carvalho & V. Carvalho (Eds.), *AGRÁRIAS PESQUISA E INOVAÇÃO NAS CIÊNCIAS QUE ALIMENTAM O MUNDO VI* (Editora Ar, p. 34). <https://doi.org/10.37572/EdArt>
- Nicklin, C., Rivera, M., & Nelson, R. (2006). Realizing the potential of an andean legume: Roles of market-led and research-led innovations. *International Journal of Agricultural Sustainability*, 4(1), 61–78. <https://doi.org/10.1080/14735903.2006.9686012>
- 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>
- Petterson, D. S. (2015). Lupin: Overview. In *Encyclopedia of Food Grains: Second Edition* (2nd ed., Vol. 1–4). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394437-5.00036-X>
- Petterson, David S., Harris, D. J., & Allen, D. G. (2016). Alkaloids. *Encyclopedia of Applied Plant Sciences*, 2, 118–124. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394807-6.00221-5>
- Pineda-Munoz, C. F., Ramirez-Vargas, M. del R., Medina-Moreno, S. A., Villanueva-

- Ibáñez, M., Lcuho-Constantino, C. A., Tellez-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. Vol.1 No.2 32-38. 1(2), 32–38.* Retrieved from <https://www.uaeh.edu.mx/investigacion/productos/7543/>
- Plaza González, P. J. (2015). *Control de la temperatura en sistemas de calentamiento por microondas.* Universidad politecnica de valencia.
- Porep, J. U., Kammerer, D. R., & Carle, R. (2015). On-line application of near infrared (NIR) spectroscopy in food production. *Trends in Food Science and Technology, 46(2), 211–230.* <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.10.002>
- Quispe Condori, R. Y. (2012). *Extracción y caracterización del aceite de tarwi (Lupinus mutabilis sweet).* Universidad Nacional del Altiplano.
- Quispe Sanca, D. (2015). *Composicion nutricional de diez genotipos de Lupino (L. mutabilis y L. albus) desamargado por proceso acuoso* (Universidad Nacional Agraria la Molina). Retrieved from <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/2408/Q02-R459-T.pdf?sequence=1>
- Reinhard, H., Rupp, H., Sager, F., Streule, M., & Zoller, O. (2006). Quinolizidine alkaloids and phomopsins in lupin seeds and lupin containing food. *Journal of Chromatography A, 1112(1–2), 353–360.* <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.11.079>
- Resta, D., Boschini, G., D'Agostina, A., & Arnoldi, A. (2008). Evaluation of total quinolizidine alkaloids content in lupin flours, lupin-based ingredients, and foods. *Molecular Nutrition and Food Research, 52(4), 490–495.* <https://doi.org/10.1002/mnfr.200700206>
- Rigo Bonnin, R., Canalias Reverter, F., Esteve Poblador, S., Gella Tomás, F. J., González de la Presa, B., & López Martínez, R. M. (2018). Development of measurement procedures based on high-performance liquid chromatography. *Revista Del Laboratorio Clínico, 11(3), 137–146.* <https://doi.org/10.1016/j.labcli.2017.05.001>
- Rodríguez Barran, Ó. A. (2014). *INTENSIFICACIÓN DE PROCESOS DE TRANSFERENCIA DE MATERIA MEDIANTE ULTRASONIDOS DE POTENCIA. APLICACIÓN AL SECADO CONVECTIVO Y A LA EXTRACCIÓN CON FLUIDOS*

SUPERCRÍTICOS. Universitat de les Illes Balears.

- Rodríguez, Ó., Santacatalina, J. V., Simal, S., Garcia-Perez, J. V., Femenia, A., & Rosselló, C. (2014). Influence of power ultrasound application on drying kinetics of apple and its antioxidant and microstructural properties. *Journal of Food Engineering*, 129, 21–29. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.01.001>
- 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*, (July). <https://doi.org/10.5772/intechopen.73651>
- Rubio García, J. (2016). *Extracción de compuestos bioactivos mediante pre-tratamiento con microondas de subproductos vitivinícolas. Valorización del raspón de uva*. Universidad de Valladolid.
- Salazar Granara, A. A. (2015). Propiedades Nutricional y Medicinales del Tarwi o Chocho (*Lupinus mutabilis Sweet*). *Radio Programa Del Perú Programa Siempre En Casa*, 1, 1–9.
- Shankar, V., Rajasekhar, K. K., Narendra, J., Kumar, B. G., Chennakeshava, S., & Girish, C. (2010). Microwave Assisted Extraction of Alkaloids from Nux vomica seeds and Cinchona bark. *Journal of Pharmacy Research*, 3(11), 2763–2764.
- Soltani Firouz, M., Rashvand, M., & Omid, M. (2021). Rapid identification and quantification of sesame oils adulteration using low frequency dielectric spectroscopy combined with chemometrics. *Lwt - Food Science and Technology*, 140, 110736. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110736>
- Tapia, M. E. (2015, July). El tarwi, lupino andino. *Fondazione L'albero Della Vita Onlus*, 108.
- Traffano-Schiffo, M. V., Castro-Giraldez, M., Colom, R. J., Talens, P., & Fito, P. J. (2021). New methodology to analyze the dielectric properties in radiofrequency and microwave ranges in chicken meat during postmortem time. *Journal of Food Engineering*, 292(May 2020), 110350. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.110350>
- Trugo, L., von Baer, D., & von Baer, E. (2003). Lupin. *Encyclopedia of Ocean Sciences*, 540–545. <https://doi.org/10.1016/B978-012374473-9.00007-2>

- Velásquez, S., Franco, A. P., Peña, N., Bohórquez, J. C., & Gutierrez, N. (2021). Effect of coffee cherry maturity on the performance of the drying process of the bean: Sorption isotherms and dielectric spectroscopy. *Food Control*, *123*, 107692. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107692>
- Velázquez-Varela, J., Castro-Giráldez, M., & Fito, P. J. (2013). Control of the brewing process by using microwaves dielectric spectroscopy. *Journal of Food Engineering*, *119*(3), 633–639. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.06.032>
- Velázquez-Varela, José, Fito Suñer, P., & Castro Giráldez, M. (2014). *Estudio de los espectros dieléctricos en alimentos con estructura coloidal*. Universidad Politécnica de Valencia.
- Vicente Rojas, J. J. (1995). *El cultivo de Tarwi (Lupinus mutabilis Sweet) en el Estado Plurinacional de Bolivia*. La Paz.
- Vinatoru, M., Mason, T. J., & Calinescu, I. (2017). Ultrasonically assisted extraction (UAE) and microwave assisted extraction (MAE) of functional compounds from plant materials. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, *97*, 159–178. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.09.002>
- Vivanco Cuaresma, G. (2018). Efecto de tres tratamientos de desamargado de grano de tarwi (*Lupinus mutabilis sweet*) en el contenido de grasa (Universidad Nacional José María Arguedas; Vol. 2). <https://doi.org/10.3928/01484834-20090610-02>
- von Baer, D., Reimerdes, E. H., & Feldheim, W. (1979). Methoden zur Bestimmung der Chinolizidinalkaloide in *Lupinus mutabilis* - I. Schnellmethoden. *Zeitschrift Für Lebensmittel-Untersuchung Und -Forschung*, *169*(1), 27–31. <https://doi.org/10.1007/BF01353410>
- Waksmundzka-Hajnos, M., & Sherma, J. (2011). *High Performance Liquid Chromatography in Phytochemical Analysis* (Vol. 102). United States of America.
- Wink, M. (1993). Quinolizidine alkaloids. In *Methods in plant Biochemistry*. In *Natural Product Reports* (Vol. 8, pp. 349–353). <https://doi.org/10.1039/NP9840100349>
- Wolko, B., Clements, J. C., Naganowska, B., Nelson, M. N., & Yang, H. (2011). Wild crop relatives: Genomic and breeding resources: Legume crops and forages. In C. Kole (Ed.), *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources: Legume Crops and*

Forages. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-14387-8>

- 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. gang, 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>
- Yucra, E. (2020). *CINÉTICA DE DESAMARGADO DEL TARWI (Lupinus mutabilis) POR CONGELACIÓN ACOPLADO CON MICROONDAS Y ULTRASONIDO*. Universidad Nacional de Juliaca.

ANEXOS

ANEXO1: PANEL FOTOGRÁFICO OBTENIDO DURANTE LA EJECUCIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

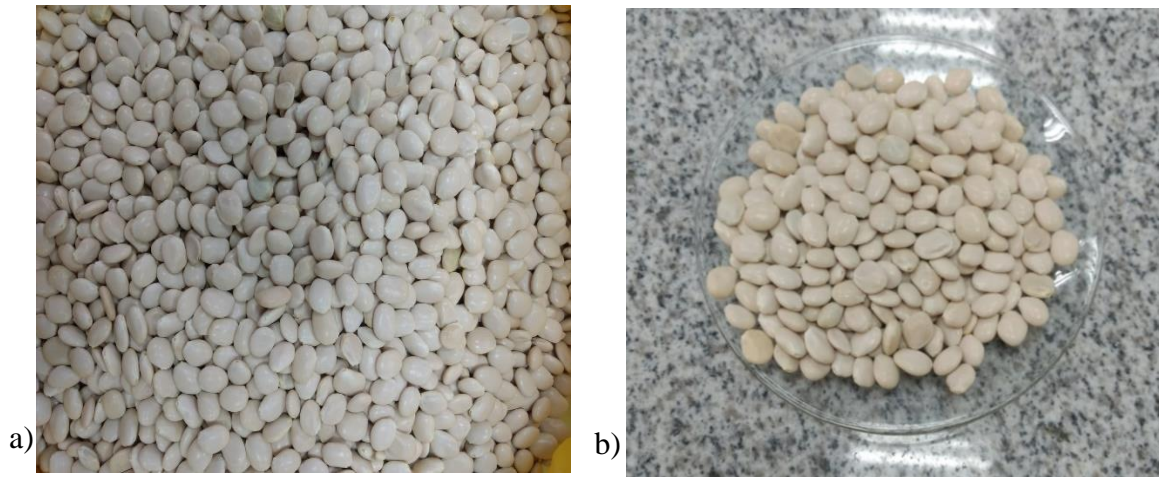


Figura 24. a) Semillas de tarwi sin seleccionar del ecotipo Yunguyo. b) Semillas de tarwi seleccionadas del ecotipo Yunguyo.

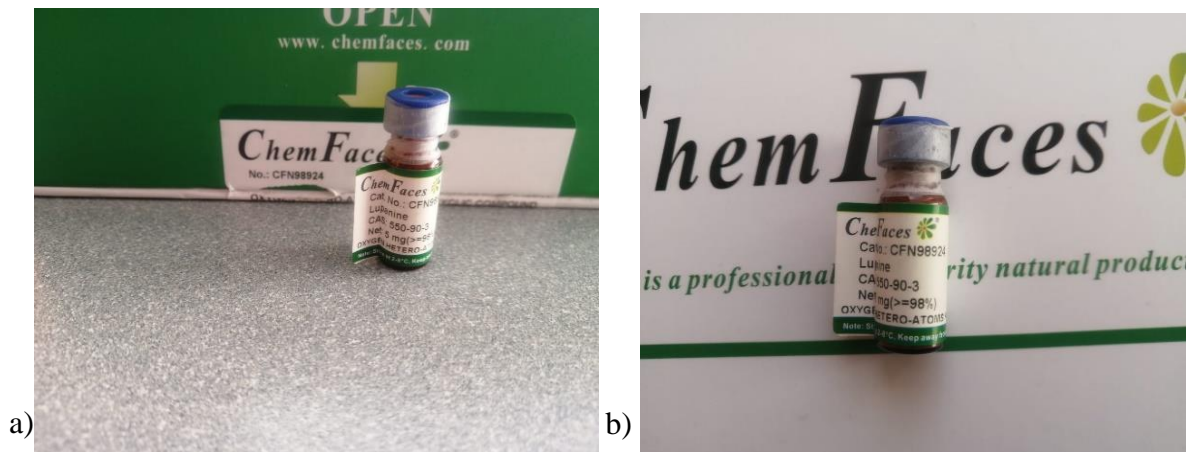


Figura 25. Patrón de lupanina.

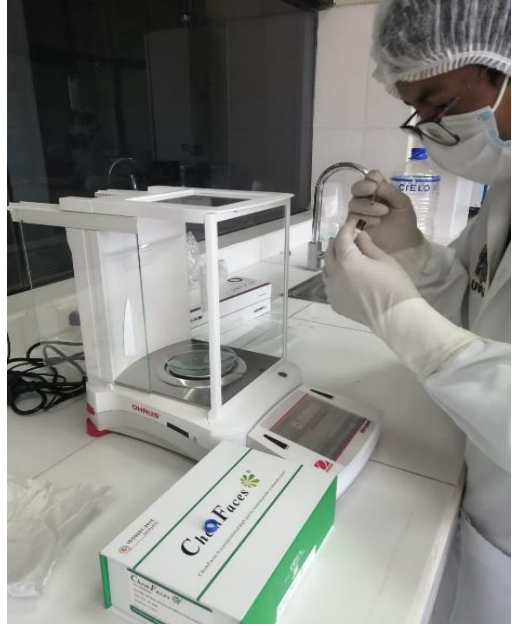


Figura 26. Pesado del patrón de lupanina.



Figura 27. Figura: Pesado del grano de tarwi.



Figura 28. Hidratado del grano de tarwi del ecotipo Yunguyo



Figura 29. Grano congelado ecotipo Yunguyo.



Figura 30. Líquido del grano de tarwi después del hidratado y congelado.



Figura 31. Desamargado del grano de tarwi por ultrasonido a 40 KHz-100 W.



Figura 32. Desamargado por microondas a 630 W.

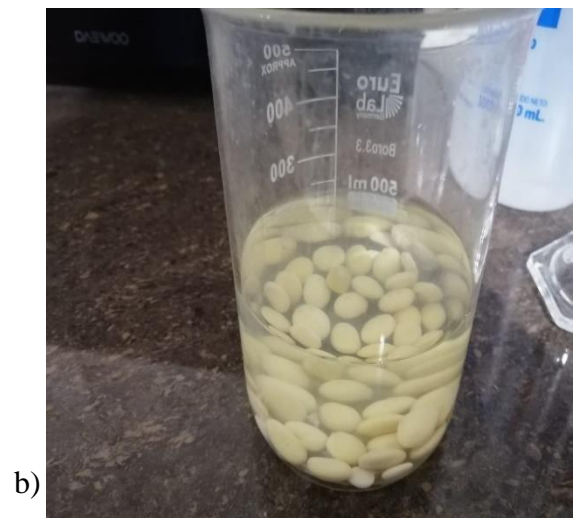


Figura 33. Grano de tarwi desamargado por a) Ultrasonido. b) Microondas.

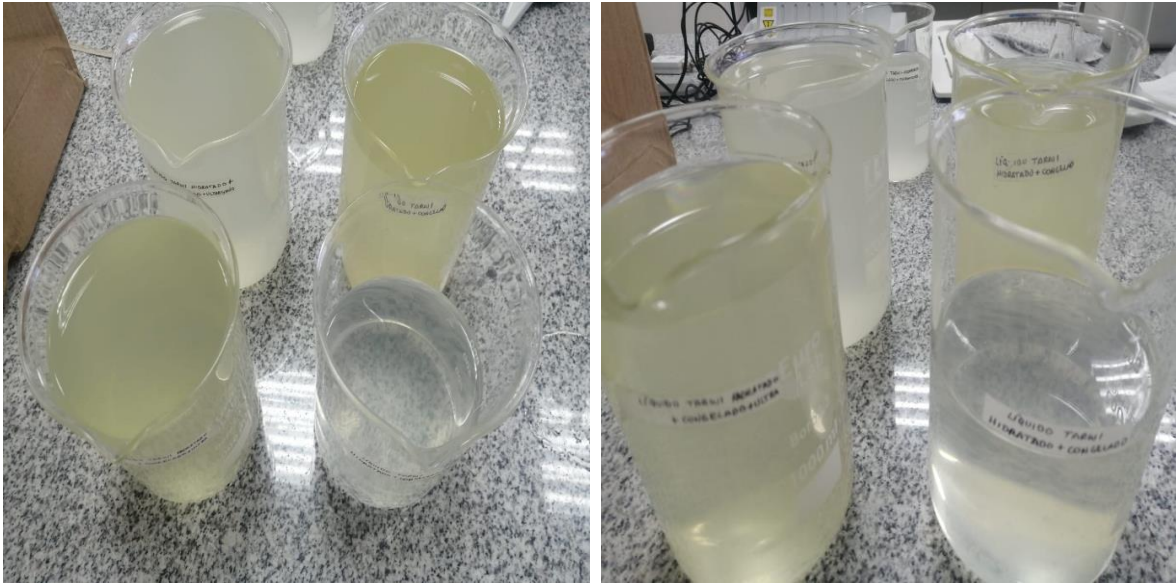


Figura 34. Líquido del grano de tarwi después del desamargado por ultrasonido y microondas.



Figura 35. a) Grano de tarwi sin deshidratar. b) Grano de tarwi deshidratado.

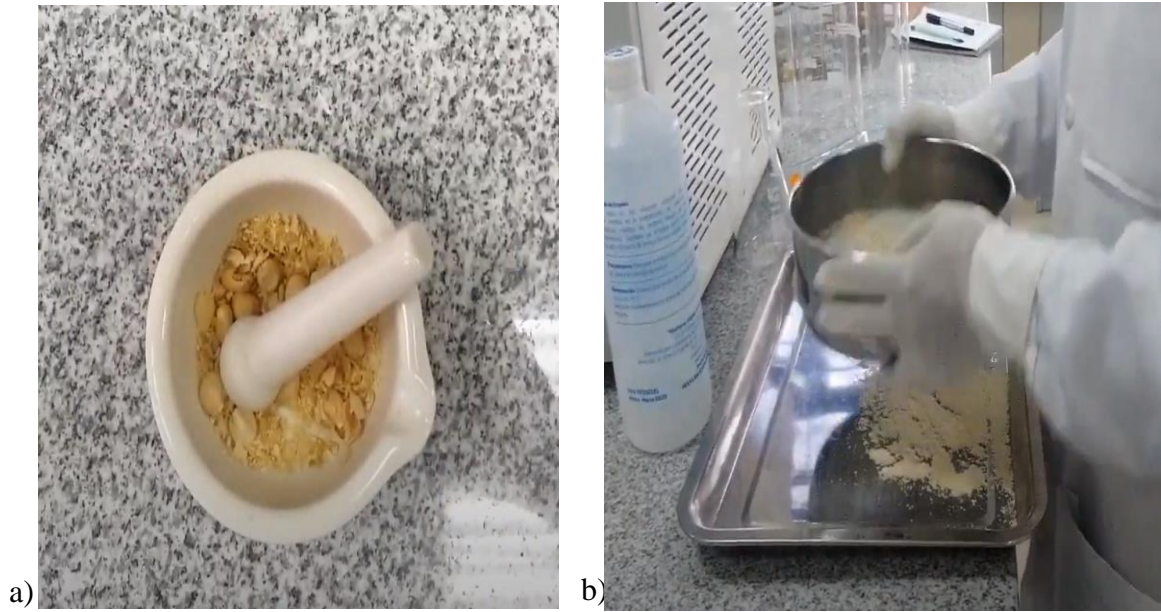


Figura 36. a) Grano de tarwi molido en mortero. b) Tamizado del grano de tarwi molido.

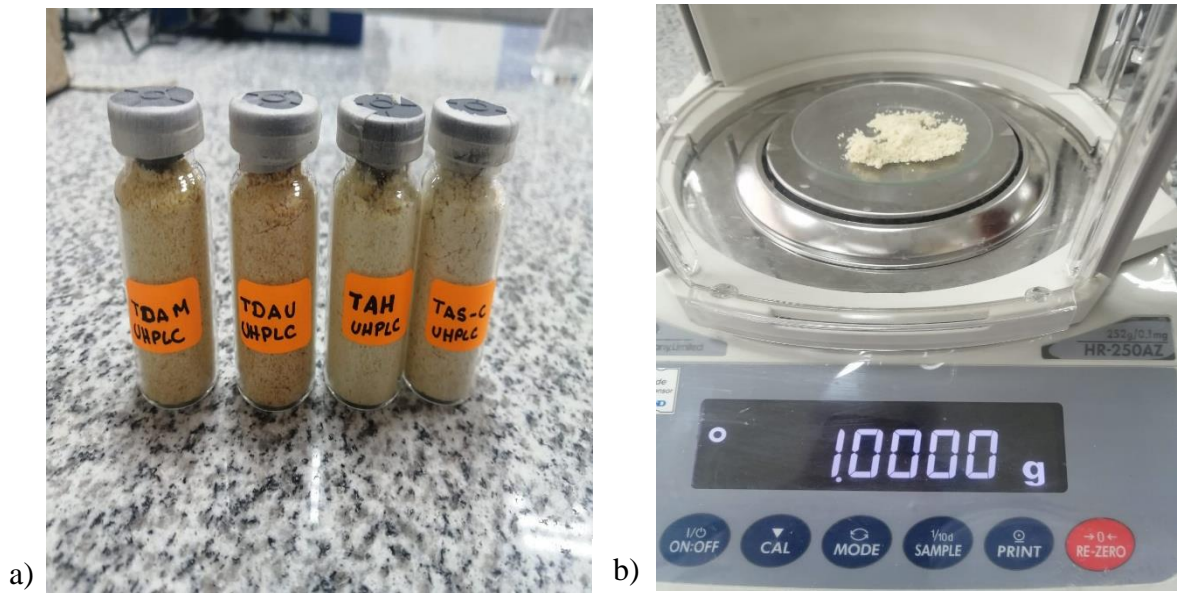


Figura 37. a) Tarwi molido y tamizado. b) pesado del tarwi molido y tamizado.

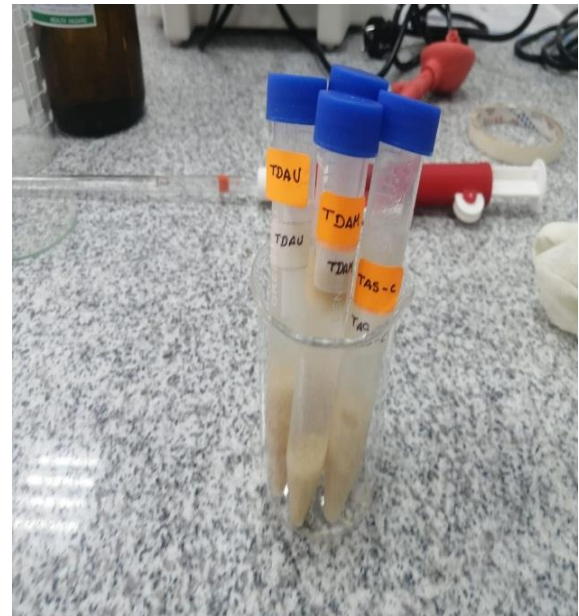
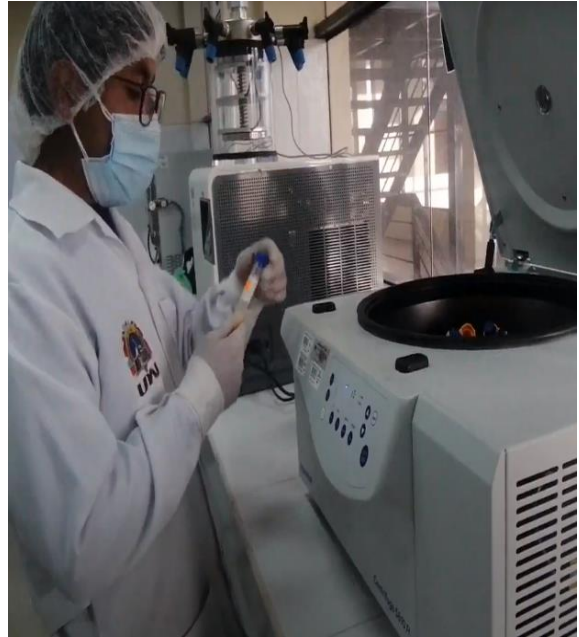


Figura 39. Extracción de los alcaloides – preparación de la muestra para la extracción de los alcaloides. – centrifugado

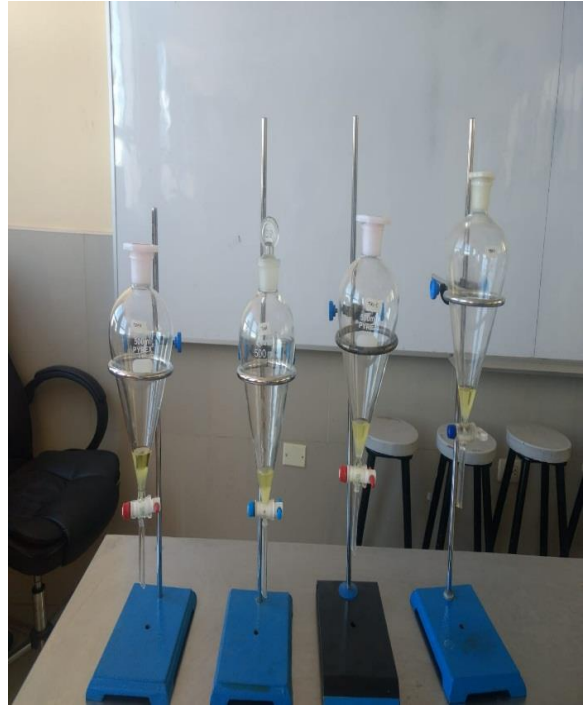


Figura 40. Extracción de alcaloides – preparación de la muestra para la extracción de los alcaloides – Elución en el rotavapor en fase líquida para el UHPLC.

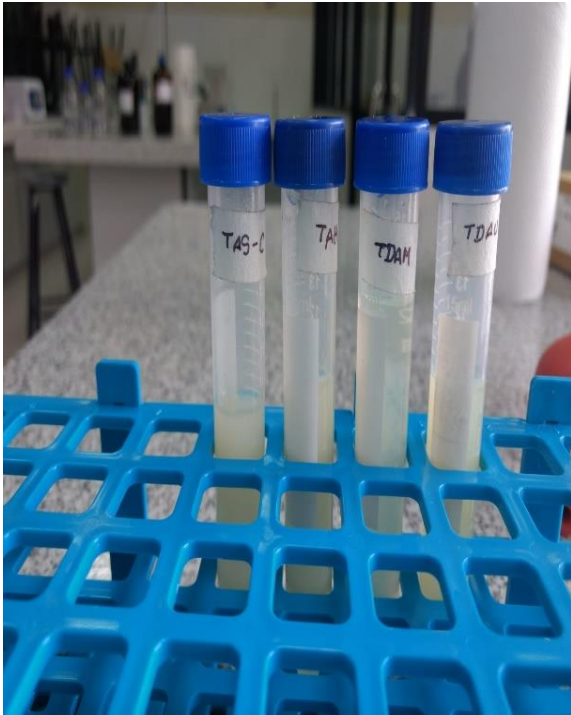


Figura 41. Preparación de la muestra para el UHPLC.



Figura 42. filtro de membrana de 0.20 µm.



Figura 43. Extracción de las burbujas de las muestras por el sonicador antes de entrar al UHPLC.

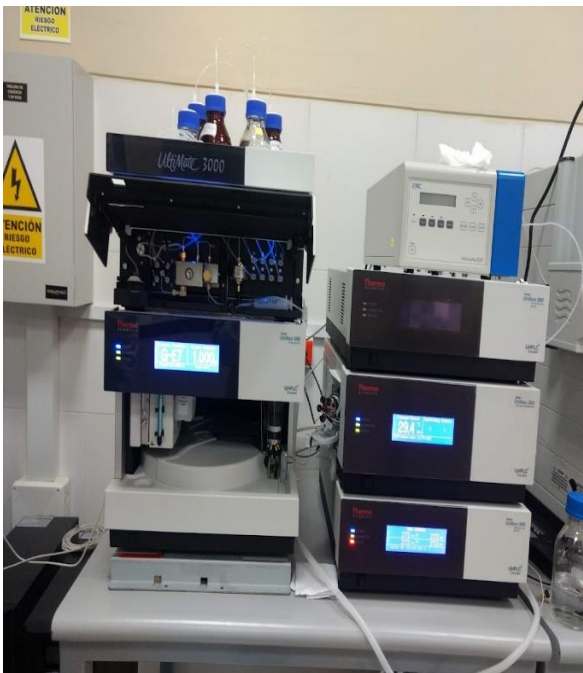


Figura 44. Equipo de UHPLC de la Escuela Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias – Sede Ayabacas-UNAJ.

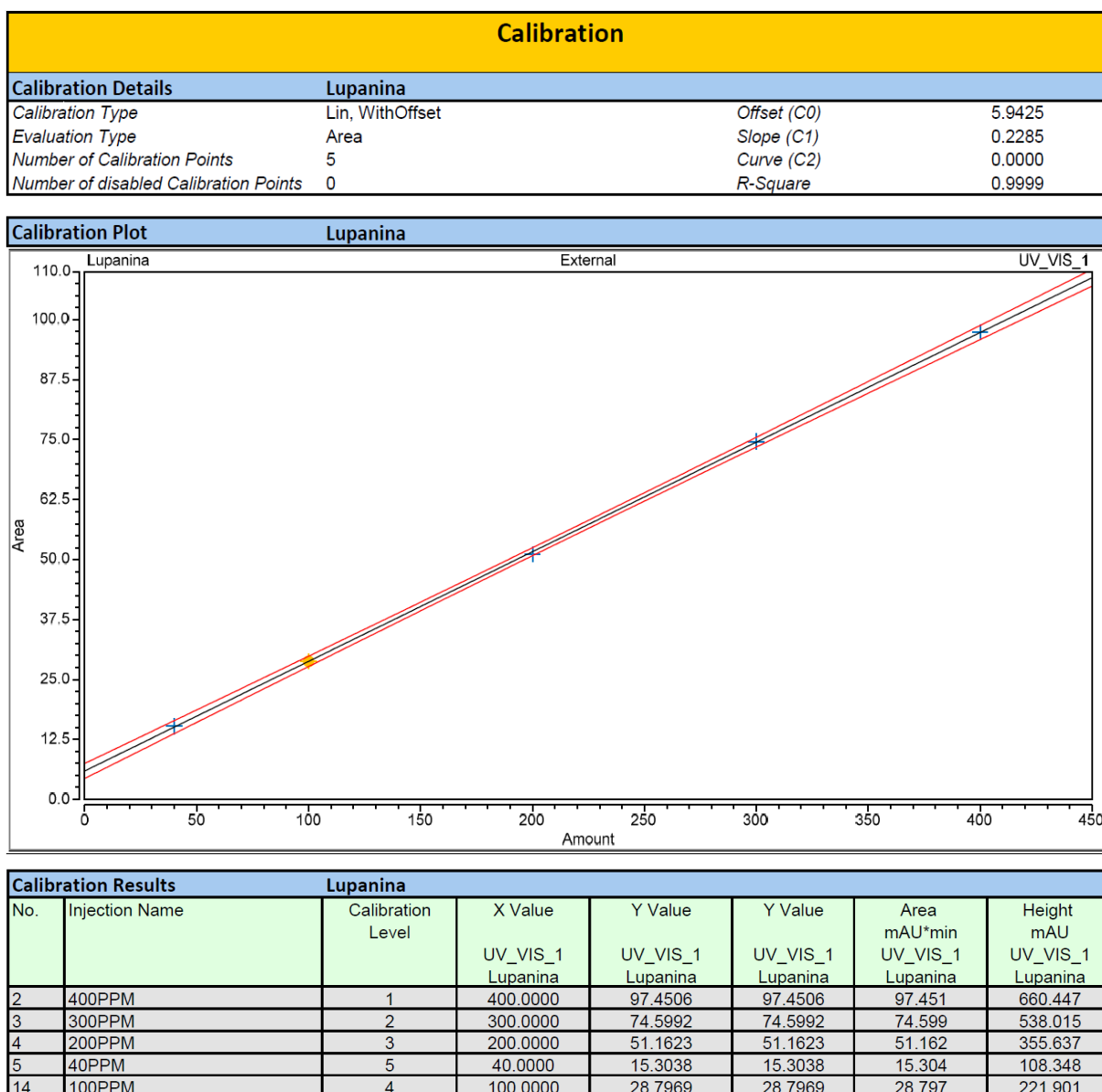


Figura 45. Calibración del Estándar de lupanina.

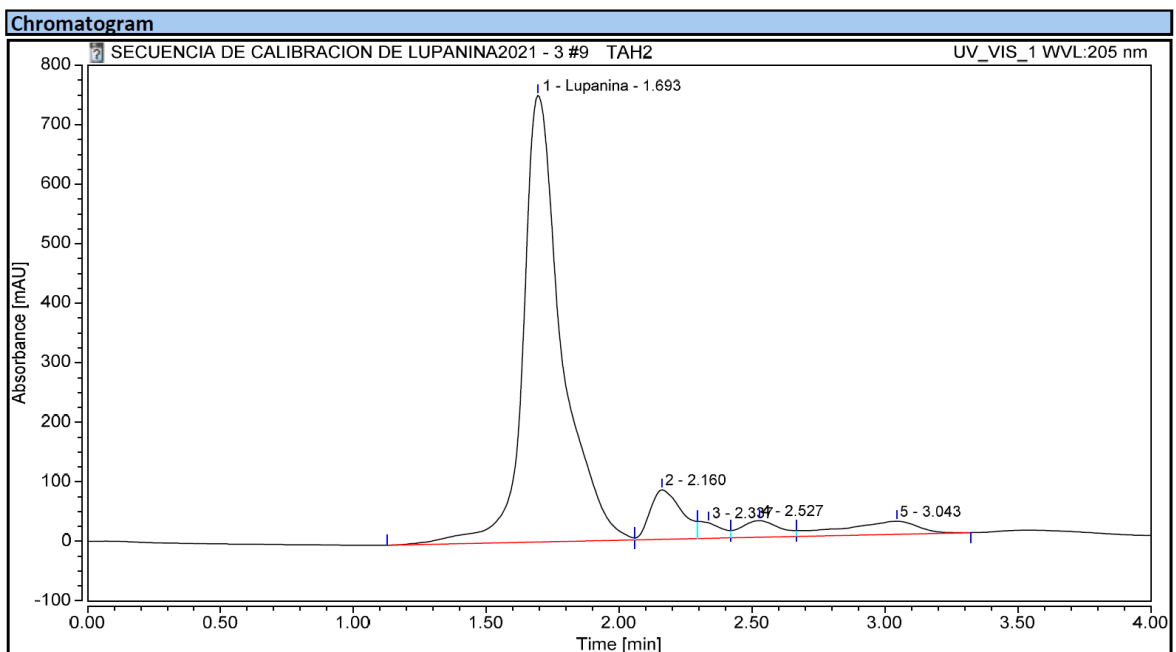
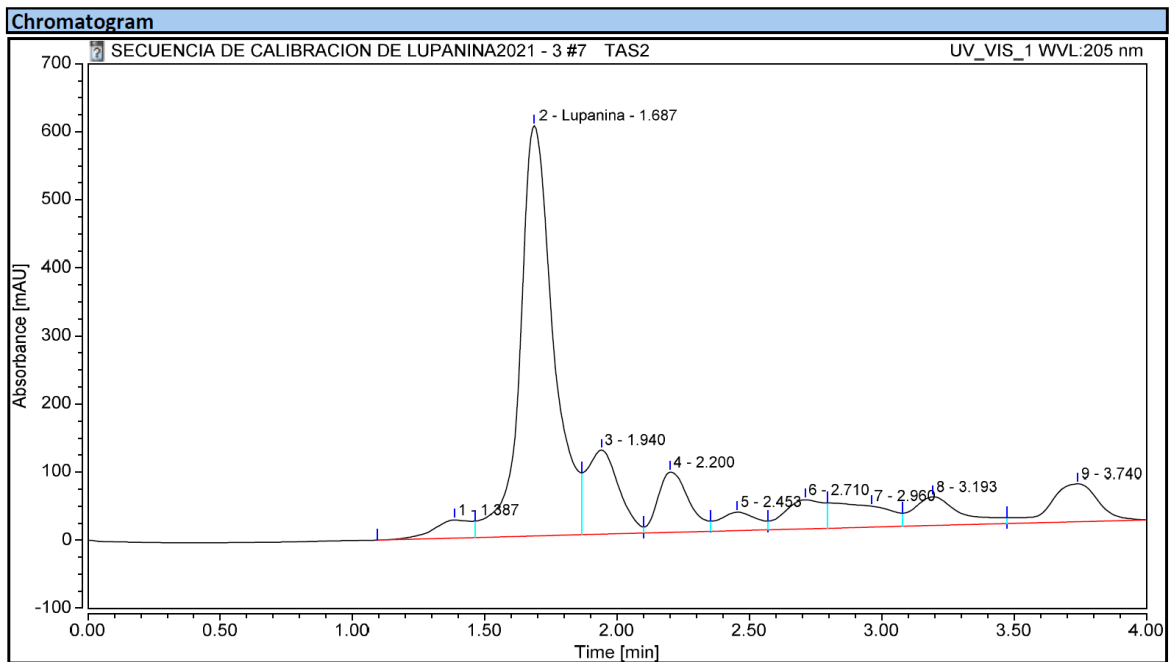


Figura 46. Presentación del Cromatograma del UHPLC a) Cromatograma de las muestras de Tarwi amargo sin tratamiento, b) Cromatograma de muestras de tarwi hidratadas.

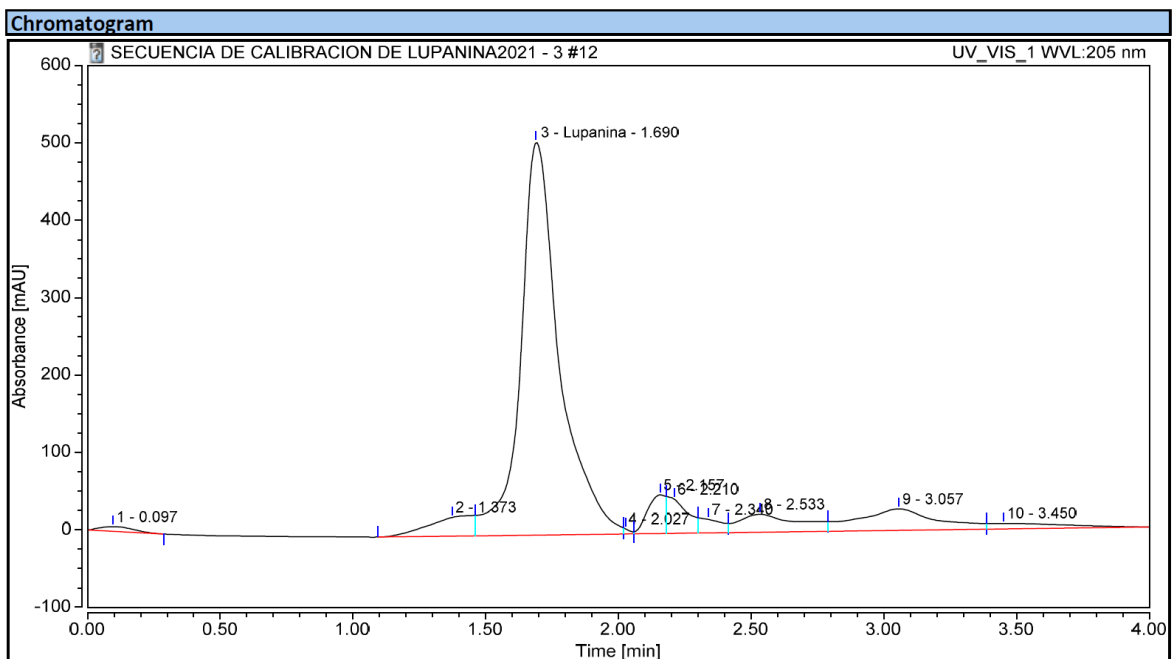
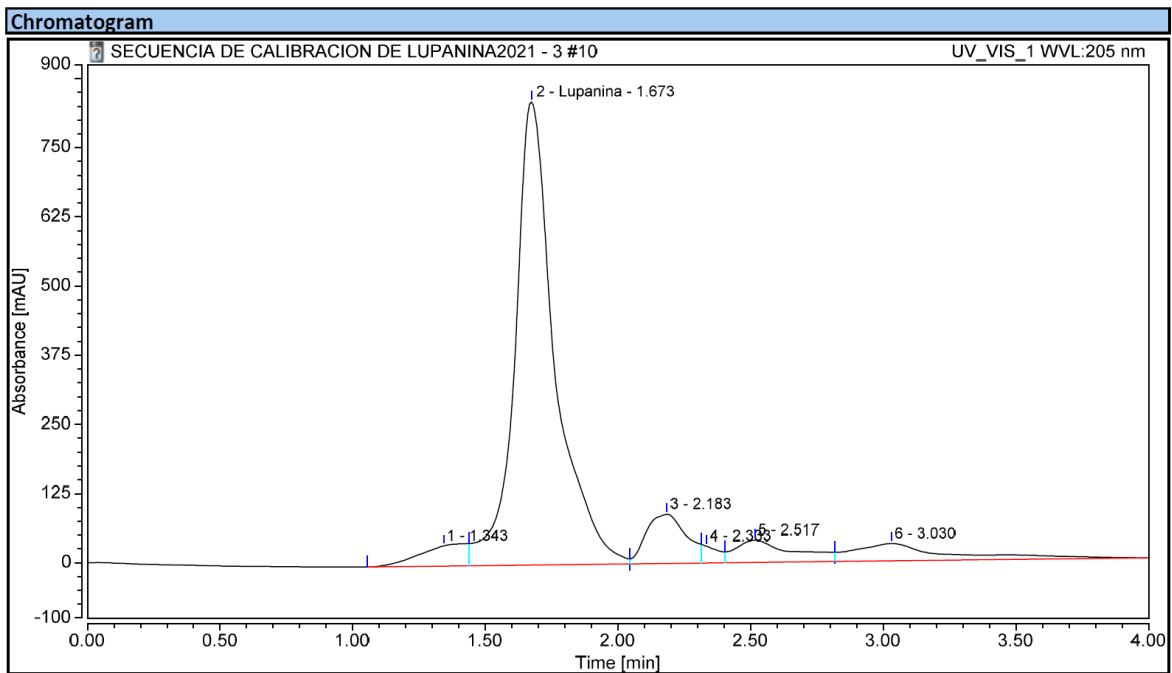


Figura 47. Presentación del Cromatograma del UHPLC. a) Cromatograma de las muestras asistidas por ultrasonido, b) Cromatograma de muestras asistidas por microondas.



Figura 48. Granos de Tarwi parcialmente deshidratados sellados al vacío.



Figura 49. Equipo dieléctrico analizador de redes vectoriales conectado a una sonda coaxial de terminación abierta-Universidad Nacional Autónoma de Chota.

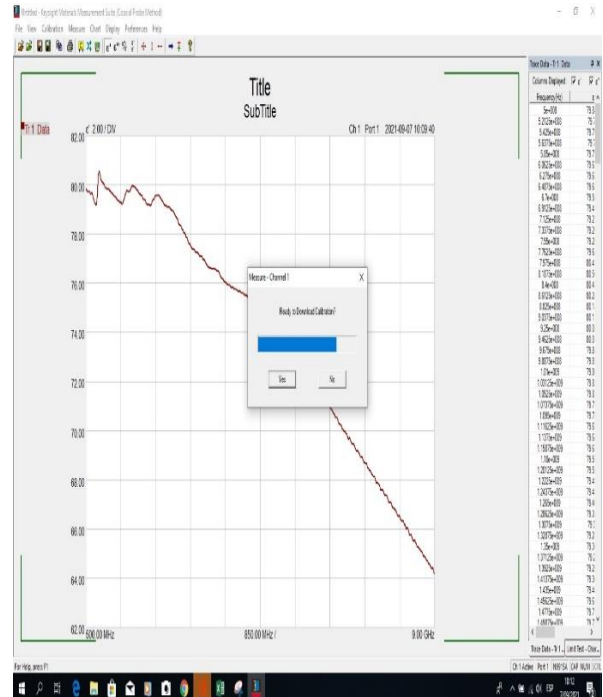


Figura 50. Secuencia de calibración del equipo dieléctrico analizador de redes vectoriales con el Standar de Lupanina de acuerdo a las concentraciones de trabajo.



Figura 51. Muestras de tarwi en el laboratorio del Instituto de Investigación del Mejoramiento productivo de la universidad Nacional Autónoma de Chota.

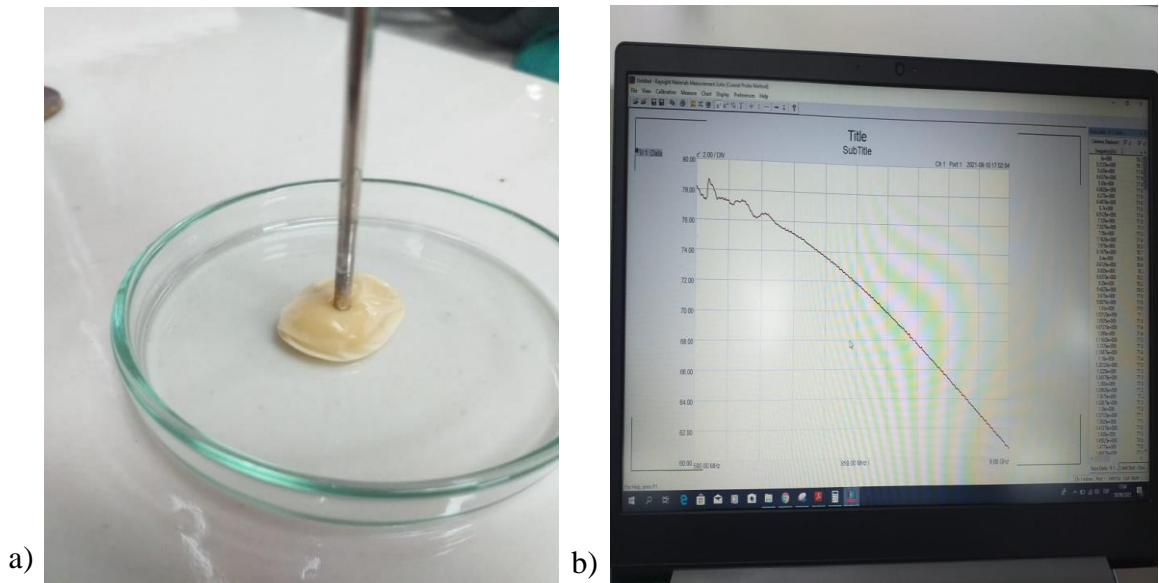


Figura 52. Analisis del grano de tarwi parcialmente deshidratado. a) Sonda coaxial de terminación abierta con la muestra del grano de Tarwi, b) Obtención de los valores de los coeficientes de reflexión.

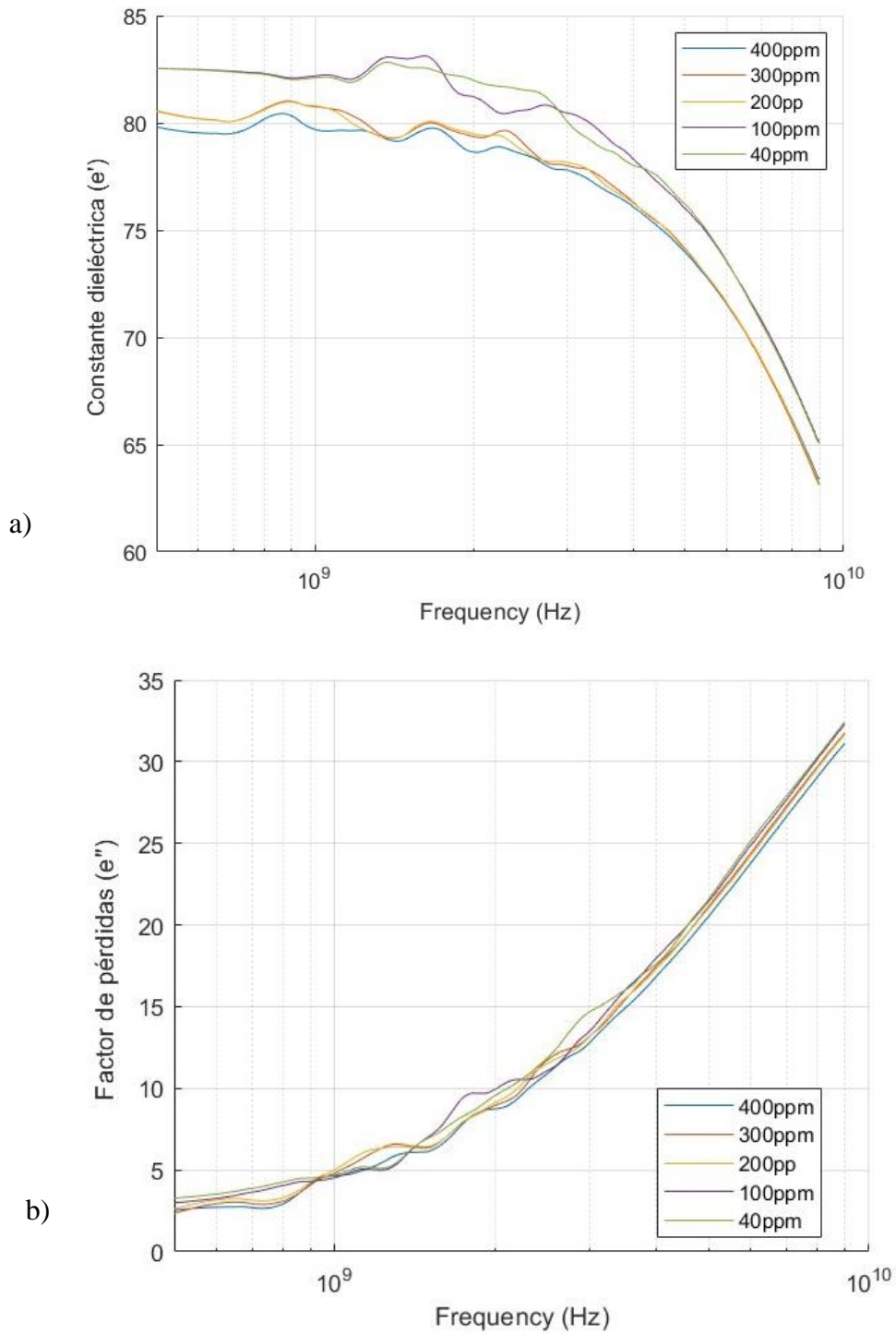


Figura 53. Espectros dieléctricos a diferentes concentraciones de lupanina.



Figura 54. Lugar de ejecución del trabajo de tesis – EPIIA sede Ayabacas, laboratorios de poscosecha y fisicoquímica.



Figura 55. Laboratorio de investigación – laboratorio de cromatografía líquida.

ANEXO 2: RESULTADOS OBTENIDOS POR ESPECTROSCOPIA DIELECTRICA DE MICROONDAS

Tabla 14. Calibración de las propiedades dieléctricas a 400 ppm

Concentración (ppm)	Factor de pérdidas (e'')			
	750 MHz	915 MHz	2450 MHz	5800 MHz
400	4.06841882	4.52455484	11.3855505	24.2437481
400	4.054039	4.50683973	11.4312587	24.3371587
400	4.06787285	4.51616489	11.441129	24.365166
400	4.06018751	4.51400362	11.4679564	24.3895548
400	4.08884027	4.53307665	11.4703287	24.4061392
400	4.09013973	4.54110516	11.6812478	24.4461252
400	4.11029131	4.54690941	11.7045452	24.4761724
400	4.10341222	4.54815638	11.7351617	24.513217
400	4.0738562	4.53385946	11.7474119	24.5586484
400	4.06554977	4.52939204	11.7557904	24.5692572
400	4.06831502	4.52373973	11.7743728	24.6033591
400	4.08491864	4.53379674	11.7890274	24.630151
400	4.08759964	4.5385848	11.8024479	24.6340344
400	4.10786833	4.55723294	11.6190243	24.6447004
400	4.11057538	4.56317394	11.6315853	24.6555624

Tabla 15. Calibración de las propiedades dieléctricas a 300 ppm

Concentración (ppm)	Factor de pérdidas (e'')			
	750	915	2450	5800
300	3.88400633	4.35910697	10.9427248	24.1830177
300	3.87599683	4.3425686	10.9416173	24.1859212
300	3.85111484	4.33409629	10.9364117	24.1821041
300	3.85479611	4.33105855	10.9507683	24.1996943
300	3.85175421	4.32902643	10.9522122	24.2368756
300	3.84587348	4.33387204	10.955513	24.228506
300	3.88153611	4.35983873	10.8983843	24.223651
300	3.87911629	4.35578217	10.904749	24.2648164
300	3.87533729	4.34398633	10.9191069	24.2743994
300	3.86414344	4.3418	10.9331897	24.2985233
300	3.83967457	4.34201864	10.9397093	24.3006243
300	3.87310643	4.36076072	10.9398812	24.3100354
300	3.87653919	4.35415964	10.9639519	24.3668886
300	3.8599057	4.37156154	10.965856	24.3781347
300	3.85166887	4.33543846	10.9777812	24.3953179

Tabla 16. Calibración de las propiedades dieléctricas a 200 ppm

Concentración (ppm)	Factor de pérdidas			
	750	915	2450	5800
200	3.71138769	4.32619837	11.2673774	24.3018851
200	3.09393828	4.52053493	11.3253351	23.5090418
200	3.10874371	4.51926416	11.3322271	23.538767
200	3.09244471	4.50698145	11.3517179	23.5545049
200	3.09940543	4.5087619	11.3590331	23.5678143
200	3.07839493	4.50641294	11.3535055	23.5813052
200	3.07290724	4.50462009	11.3619213	23.5992513
200	3.08718308	4.51292661	11.3669842	23.5972937
200	3.07293982	4.51191756	11.3716504	23.6218716
200	3.0863867	4.51270063	11.3801478	23.6229977
200	3.08769186	4.5151419	11.3909195	23.6510243
200	3.11350932	4.53377783	11.4299871	23.6553035
200	3.1000648	4.51868525	11.440694	23.6839007
200	3.10168009	4.52070624	11.4394508	23.6854686
200	3.10875638	4.5325381	11.4466517	23.6896165

Tabla 17. Calibración de las propiedades dieléctricas a 100 ppm

Concentración (ppm)	Factor de pérdidas			
	750	915	2450	5800
100	2.91891638	4.37585692	11.5186343	23.7216532
100	2.91848697	4.37056308	11.5244075	23.7332653
100	2.91027891	4.36739511	11.5246239	23.7738902
100	2.92795738	4.37079683	11.5208797	23.7524919
100	2.91547738	4.36634679	11.5356653	23.7589905
100	2.92444923	4.36693529	11.5422851	23.7713322
100	2.91764326	4.36160905	11.5399395	23.7769294
100	2.90824615	4.35170009	11.5169357	23.799856
100	2.90764615	4.35938959	11.5087618	23.8194852
100	2.91647991	4.35662796	11.5152955	23.8321763
100	2.9245229	4.35335367	11.5229933	23.8184992
100	2.91840118	4.35994914	11.5199853	23.8229608
100	2.90706253	4.35710679	11.5247633	23.827061
100	2.92238814	4.36869602	11.5388273	23.8371842
100	2.91562851	4.36167493	11.536113	23.8379303

Tabla 18. Calibración de las propiedades dieléctricas a 40 ppm

Concentración (ppm)	Factor de pérdidas			
	750	915	2450	5800
40	2.66297285	4.39756009	10.6660359	23.1014406
40	2.67186181	4.39992624	10.6693833	23.1302509
40	2.68341014	4.40941312	10.6833053	23.1232382
40	2.68527493	4.39762262	10.6941019	23.1385329
40	2.68661792	4.39975113	10.7016537	23.152671
40	2.6912352	4.41175014	10.7109255	23.1757037
40	2.70167683	4.40696462	10.7217635	23.1906557
40	2.6902409	4.41372986	10.7335388	23.2066856
40	2.68851059	4.41619928	10.7331246	23.2295885
40	2.65022398	4.45966814	10.714539	23.2611068
40	2.65288462	4.45563231	10.7179662	23.2606852
40	2.64898009	4.45892498	10.7137033	23.278569
40	2.69001765	4.43172905	10.7547697	23.2714321
40	2.69570072	4.42328588	10.759434	23.2656126
40	2.68645665	4.42594362	10.7531216	23.2627866

Tabla 19. Tratamiento de desamargado del grano de tarwi en la espectroscopía dieléctrica de microondas – TAH

Repeticiones	Tratamiento	Factor de pérdidas			
		750 MHz	915 MHz	2450 MHz	5800 MHz
1	TAH	6.5585	6.2875	5.1195	4.8785
2	TAH	6.0298	5.8283	4.801	4.5543
3	TAH	6.0298	5.8283	4.801	4.5543
4	TAH	6.2698	6.0153	4.9382	4.6988
5	TAH	8.969	8.6308	7.0801	6.8615
6	TAH	6.2188	5.9591	4.8254	4.5306
7	TAH	7.2377	6.9591	5.6918	5.4075
8	TAH	7.7589	7.4082	6.0292	5.7214
9	TAH	7.6213	7.328	6.0927	5.8082
10	TAH	6.4632	6.1933	5.0382	4.8321
11	TAH	6.6329	6.3675	5.2287	4.9174
12	TAH	5.5507	5.3817	4.3908	4.0913
13	TAH	5.8464	5.573	4.5639	4.3588
14	TAH	6.8365	6.5354	5.3504	5.1223
15	TAH	7.3686	7.0331	5.743	5.5267
16	TAH	7.9935	7.6478	6.253	5.9975
17	TAH	6.5141	6.203	5.0223	4.7351
18	TAH	6.6145	6.4179	5.3013	4.9983
19	TAH	9.5573	9.0834	7.2807	7.0588
20	TAH	6.4082	6.1082	4.991	4.6855
21	TAH	6.3728	6.1412	5.0878	4.8457
22	TAH	5.4255	5.2479	4.3398	4.0105
23	TAH	7.0763	6.8201	5.6343	5.3806
24	TAH	6.5903	6.3249	5.167	4.769
25	TAH	6.5346	6.2871	5.1597	4.9266
26	TAH	6.8445	6.5959	5.4091	5.1405
27	TAH	6.0935	5.8606	4.8592	4.6333
28	TAH	6.1622	5.9227	4.8028	4.5448
29	TAH	7.0596	6.7726	5.5285	5.2898
30	TAH	6.0139	5.8015	4.8177	4.4772
31	TAH	6.1104	5.8095	4.4558	4.144
32	TAH	5.556	5.3166	4.1097	3.8464
33	TAH	6.7061	6.3512	4.8503	4.6206
34	TAH	7.4244	7.0439	5.6065	5.4386
35	TAH	6.5088	6.1664	4.8985	4.7028
36	TAH	4.2817	4.1484	3.2246	3.0178
37	TAH	3.4641	3.3109	2.5214	2.4502
38	TAH	6.8264	6.4818	5.0526	4.8328
39	TAH	7.7177	7.3142	5.7628	5.5609
40	TAH	7.9199	7.4973	5.9247	5.7173
41	TAH	5.7381	5.494	4.2928	4.0039
42	TAH	5.9203	5.5823	4.2932	4.0906
43	TAH	6.1006	5.8186	4.5337	4.1739
44	TAH	4.6505	4.4701	3.5546	3.2547
45	TAH	7.5323	7.1368	5.5291	5.2063

46	TAH	7.3978	7.0762	5.6748	5.3001
47	TAH	6.0905	5.758	4.4486	4.2438
48	TAH	5.4579	5.2134	4.0358	3.7454
49	TAH	6.3173	5.96	4.6632	4.399
50	TAH	5.0537	4.8375	3.7962	3.4562

Tabla 20. Tratamiento de desamargado del grano de tarwi en la espectroscopía dieléctrica de microondas – TDAM

Repeticiones	Tratamiento	Factor de pérdidas			
		750 MHz	915 MHz	2450 MHz	5800 MHz
1	TDAM	4.6847	4.4994	3.7539	3.72
2	TDAM	6.399	6.2189	5.2831	5.1826
3	TDAM	6.9511	6.654	5.5612	5.4797
4	TDAM	6.0371	5.8879	5.0171	4.9211
5	TDAM	6.2708	6.0693	5.0794	4.9526
6	TDAM	6.1569	5.8965	4.8571	4.7621
7	TDAM	5.5868	5.3909	4.4956	4.367
8	TDAM	5.9393	5.7222	4.787	4.6235
9	TDAM	7.6988	7.3824	6.0993	5.9181
10	TDAM	6.6162	6.3486	5.2482	5.0742
11	TDAM	8.3163	8.0338	6.7623	6.6298
12	TDAM	5.5483	5.3541	4.5413	4.3722
13	TDAM	6.0861	5.9225	4.9226	4.7572
14	TDAM	4.53	4.3955	3.6747	3.6195
15	TDAM	6.0114	5.7541	4.8086	4.6655
16	TDAM	7.2626	7.0052	5.8419	5.7265
17	TDAM	8.2841	8.0351	6.7861	6.7187
18	TDAM	6.5978	6.3263	5.2741	5.2051
19	TDAM	6.5965	6.3691	5.324	5.1464
20	TDAM	7.1808	6.8948	5.804	5.6674
21	TDAM	6.2238	6.0137	5.0521	4.8744
22	TDAM	6.2665	6.0259	5.101	4.9091
23	TDAM	5.5645	5.4279	4.6213	4.4826
24	TDAM	5.0951	4.8834	4.021	3.9657
25	TDAM	5.6534	5.5069	4.6567	4.3834
26	TDAM	5.9954	5.7942	4.9398	4.7909
27	TDAM	5.993	5.8116	4.9694	4.8115
28	TDAM	5.8477	5.6429	4.7251	4.6041
29	TDAM	5.8418	5.6266	4.7225	4.608
30	TDAM	5.7219	5.5322	4.6475	4.4626
31	TDAM	6.8372	6.5764	5.4805	5.2822
32	TDAM	5.2081	5.0522	4.2218	4.0742
33	TDAM	11.3893	10.8686	8.772	8.605
34	TDAM	6.5998	6.3871	5.344	5.1985
35	TDAM	6.7875	6.5344	5.4472	5.3376
36	TDAM	6.674	6.4296	5.3336	5.1395
37	TDAM	6.4367	6.1874	5.1475	4.8985
38	TDAM	4.7836	4.625	3.8604	3.7551
39	TDAM	5.904	5.7437	4.7715	4.6092
40	TDAM	6.2792	6.1104	5.1188	4.9747
41	TDAM	6.4512	6.2181	5.1906	4.9187
42	TDAM	8.9705	8.5897	7.1568	7.0506

43	TDAM	6.7665	6.515	5.4841	5.2718
44	TDAM	5.1546	5.0142	4.194	4.0459
45	TDAM	6.0013	5.7869	4.8437	4.6426
46	TDAM	5.6158	5.4205	4.5201	4.3175
47	TDAM	6.0491	5.8738	4.9017	4.643
48	TDAM	5.3316	5.1362	4.2892	4.1885
49	TDAM	6.2505	6.0124	4.9712	4.829
50	TDAM	7.1042	6.8721	5.7512	5.4851

Tabla 21. Tratamiento de desamargado del grano de tarwi en la espectroscopía dieléctrica de microondas – TDAM

Repeticiones	Tratamiento	Factor de pérdidas			
		750 MHz	915 MHz	2450 MHz	5800 MHz
1	TDAU	7.0467	6.7579	5.5368	5.7186
2	TDAU	8.9831	8.5947	7.1924	7.5318
3	TDAU	7.6186	7.3015	6.0841	6.2631
4	TDAU	6.5844	6.3692	5.3884	5.5175
5	TDAU	7.8154	7.5085	6.2703	6.4162
6	TDAU	8.5678	8.1919	6.8842	7.1887
7	TDAU	7.1925	6.873	5.7626	5.8295
8	TDAU	7.4583	7.1545	6.1137	6.2565
9	TDAU	9.7839	9.3844	7.882	8.1351
10	TDAU	8.4907	8.1288	6.8741	6.9859
11	TDAU	7.4437	7.1441	6.0541	6.2293
12	TDAU	8.4391	8.0971	6.8951	7.063
13	TDAU	7.5665	7.2748	6.0926	6.3035
14	TDAU	8.7259	8.3995	7.0953	7.2938
15	TDAU	6.8708	6.6502	5.6995	5.7976
16	TDAU	9.0674	8.6985	7.2925	7.4741
17	TDAU	8.8324	8.4859	7.1222	7.392
18	TDAU	9.157	8.8194	7.4535	7.5554
19	TDAU	9.9878	9.5536	7.976	8.0505
20	TDAU	11.3587	10.8219	8.8744	9.1653
21	TDAU	7.6722	7.3699	6.1988	6.3175
22	TDAU	9.3541	8.9981	7.6008	7.834
23	TDAU	12.2588	11.7252	9.8865	10.0411
24	TDAU	12.2588	11.7252	9.8865	10.0411
25	TDAU	10.6455	10.2173	8.6223	8.7515
26	TDAU	9.431	9.0766	7.6498	7.7173
27	TDAU	9.3782	8.9774	7.5596	7.9917
28	TDAU	8.0453	7.7238	6.5844	6.8015
29	TDAU	7.5247	7.2582	6.1505	6.2075
30	TDAU	6.3069	6.1117	5.1169	5.0472
31	TDAU	8.6825	8.2951	6.8853	7.0977
32	TDAU	7.909	7.5567	6.267	6.3662
33	TDAU	6.8204	6.5745	5.6055	5.6721
34	TDAU	6.8204	6.5745	5.6055	5.6721
35	TDAU	9.0139	8.6694	7.3261	7.5587
36	TDAU	6.6466	6.3614	5.4241	5.6092
37	TDAU	6.4664	6.2739	5.4219	5.3557
38	TDAU	8.3654	7.9825	6.7037	6.9199
39	TDAU	7.8831	7.5535	6.2289	6.3642
40	TDAU	7.174	6.8646	5.7226	5.804
41	TDAU	8.2796	8.0124	6.9376	7.0871

42	TDAU	7.3333	7.0762	5.9342	6.0254
43	TDAU	7.849	7.5325	6.3532	6.4656
44	TDAU	7.4887	7.1922	6.0368	6.1751
45	TDAU	6.2169	5.9974	5.0003	5.018
46	TDAU	7.4166	7.1364	6.0488	6.0588
47	TDAU	8.2818	7.9902	6.6805	6.7053
48	TDAU	9.7621	9.3535	7.9321	8.3126
49	TDAU	8.7454	8.4128	7.199	7.4904
50	TDAU	7.9299	7.6276	6.394	6.4482

Tabla 22. Cantidad de lupanina en el espectro dieléctrico de microondas en el tratamiento TAH

Repeticiones	Tratamiento	Factor de pérdidas			
		750 MHz	915 MHz	2450 MHz	5800 MHz
1	TAH	993.853659	9520	-4887.91667	-5546.2438
2	TAH	864.902439	7224	-5153.33333	-5649.67443
3	TAH	864.902439	7224	-5153.33333	-5649.67443
4	TAH	923.439024	8159	-5039	-5605.78791
5	TAH	1581.78049	21236.5	-3254.08333	-4953.82781
6	TAH	911	7878	-5133	-5652.04624
7	TAH	1159.5122	12878	-4411	-5388.32974
8	TAH	1286.63415	15123.5	-4129.83333	-5294.22342
9	TAH	1253.07317	14722.5	-4076.91667	-5263.68767
10	TAH	970.609756	9049	-4955.66667	-5564.6017
11	TAH	1012	9920	-4796.91667	-5541.39002
12	TAH	748.04878	4991	-5495.16667	-5792.44788
13	TAH	820.170732	5947.5	-5350.91667	-5706.21116
14	TAH	1061.65854	10759.5	-4695.5	-5478.95703
15	TAH	1191.43902	13248	-4368.33333	-5352.56835
16	TAH	1343.85366	16321.5	-3943.33333	-5206.84774
17	TAH	983.02439	9097.5	-4968.91667	-5589.55149
18	TAH	1007.5122	10172	-4736.41667	-5513.47051
19	TAH	1725.26829	23499.5	-3086.91667	-4891.02592
20	TAH	957.195122	8623.5	-4995	-5605.92448
21	TAH	948.560976	8788.5	-4914.33333	-5557.20428
22	TAH	717.512195	4322	-5537.66667	-5809.59789
23	TAH	1120.14634	12183	-4458.91667	-5399.08082
24	TAH	1001.60976	9707	-4848.33333	-5583.42633
25	TAH	988.02439	9518	-4854.41667	-5537.25869
26	TAH	1063.60976	11062	-4646.58333	-5468.31836
27	TAH	880.439024	7385.5	-5104.83333	-5624.59668
28	TAH	897.195122	7696	-5151.83333	-5647.80233
29	TAH	1116.07317	11945.5	-4547.08333	-5424.75749
30	TAH	861.02439	7090	-5139.41667	-5669.66985
31	TAH	884.560976	7130	-5441	-5767.98012
32	TAH	749.341463	4665.5	-5729.41667	-5858.88052
33	TAH	1029.85366	9838.5	-5112.25	-5629.11748
34	TAH	1205.04878	13302	-4482.08333	-5378.06919
35	TAH	981.731707	8914.5	-5072.08333	-5603.92264
36	TAH	438.536585	-1175.5	-6467	-6113.84264
37	TAH	239.121951	-5363	-7053	-6286.90525
38	TAH	1059.19512	10491.5	-4943.66667	-5560.88751
39	TAH	1276.58537	14653.5	-4351.83333	-5341.14008
40	TAH	1325.90244	15569	-4216.91667	-5290.26494
41	TAH	793.756098	5552.5	-5576.83333	-5812.82166
42	TAH	838.195122	5994	-5576.5	-5793.08981
43	TAH	882.170732	7175.5	-5376.08333	-5762.68035
44	TAH	528.487805	433	-6192	-6040.48227

45	TAH	1231.36585	13766.5	-4546.58333	-5451.77576
46	TAH	1198.56098	13463.5	-4425.16667	-5420.50374
47	TAH	879.707317	6872.5	-5447	-5740.37628
48	TAH	725.414634	4149.5	-5791	-5893.61783
49	TAH	935.02439	7882.5	-5268.16667	-5689.53599
50	TAH	626.829268	2270	-5990.66667	-5978.64508

Tabla 23. Cantidad de lupanina en el espectro dieléctrico de microondas en el tratamiento TDAM

Repeticiones	Tratamiento	Factor de pérdidas			
		750 MHz	915 MHz	2450 MHz	5800 MHz
1	TDAM	536.829268	579.5	-6025.91667	-5903.77839
2	TDAM	954.95122	9177	-4751.58333	-5460.61733
3	TDAM	1089.60976	11352.5	-4519.83333	-5367.86009
4	TDAM	866.682927	7522	-4973.25	-5537.18196
5	TDAM	923.682927	8429	-4921.33333	-5531.30229
6	TDAM	895.902439	7565	-5106.58333	-5583.90394
7	TDAM	756.853659	5037	-5407.83333	-5704.85142
8	TDAM	842.829268	6693.5	-5165	-5626.75478
9	TDAM	1271.97561	14994.5	-4071.41667	-5238.57987
10	TDAM	1007.92683	9825.5	-4780.66667	-5498.05545
11	TDAM	1422.58537	18251.5	-3518.91667	-5021.73605
12	TDAM	747.463415	4853	-5369.75	-5707.49911
13	TDAM	878.634146	7695	-5052	-5584.81163
14	TDAM	499.097561	60	-6091.91667	-5933.32168
15	TDAM	860.414634	6853	-5147	-5621.09993
16	TDAM	1165.58537	13108.5	-4285.91667	-5294.04769
17	TDAM	1414.73171	18258	-3499.08333	-4991.79095
18	TDAM	1003.43902	9714	-4759.08333	-5451.99416
19	TDAM	1003.12195	9928	-4717.5	-5467.17417
20	TDAM	1145.63415	12556.5	-4317.5	-5311.07001
21	TDAM	912.219512	8151	-4944.08333	-5549.64009
22	TDAM	922.634146	8212	-4903.33333	-5537.39449
23	TDAM	751.414634	5222	-5303.08333	-5666.81933
24	TDAM	636.926829	2499.5	-5803.33333	-5830.45992
25	TDAM	773.097561	5617	-5273.58333	-5695.4656
26	TDAM	856.512195	7053.5	-5037.66667	-5576.42855
27	TDAM	855.926829	7140.5	-5013	-5570.42679
28	TDAM	820.487805	6297	-5216.58333	-5631.09801
29	TDAM	819.04878	6215.5	-5218.75	-5631.09096
30	TDAM	789.804878	5743.5	-5281.25	-5672.57074
31	TDAM	1061.82927	10964.5	-4587.08333	-5427.88202
32	TDAM	664.487805	3343.5	-5636	-5793.26154
33	TDAM	2172.09756	32425.5	-1844.16667	-4417.38615
34	TDAM	1003.92683	10018	-4700.83333	-5452.44635
35	TDAM	1049.70732	10754.5	-4614.83333	-5409.61604
36	TDAM	1022.02439	10230.5	-4709.5	-5469.58955
37	TDAM	964.146341	9019.5	-4864.58333	-5543.88282
38	TDAM	560.95122	1207.5	-5937.16667	-5889.47999
39	TDAM	834.219512	6801	-5177.91667	-5631.4608
40	TDAM	925.731707	8634.5	-4888.5	-5516.87278
41	TDAM	967.682927	9173	-4828.66667	-5539.04939
42	TDAM	1582.14634	21031	-3190.16667	-4891.26557
43	TDAM	1044.58537	10657.5	-4584.08333	-5430.33868
44	TDAM	651.439024	3153.5	-5659.16667	-5799.9994

45	TDAM	857.95122	7017	-5117.75	-5619.39413
46	TDAM	763.926829	5185	-5387.41667	-5718.96435
47	TDAM	869.609756	7451.5	-5069.41667	-5621.20107
48	TDAM	694.609756	3763.5	-5579.83333	-5761.68915
49	TDAM	918.731707	8144.5	-5011.5	-5562.04947
50	TDAM	1126.95122	12443	-4361.5	-5364.83058

Tabla 24. Cantidad de lupanina en el espectro dieléctrico de microondas en el tratamiento TDAU

Repeticiones	Tratamiento	Factor de pérdidas			
		750 MHz	915 MHz	2450 MHz	5800 MHz
1	TDAU	1112.92683	11872	-4540.16667	-5300.89744
2	TDAU	1585.21951	21056	-3160.5	-4747.92796
3	TDAU	1252.41463	14590	-4084.08333	-5135.59358
4	TDAU	1000.17073	9928.5	-4663.83333	-5360.42496
5	TDAU	1300.41463	15625	-3928.91667	-5088.62084
6	TDAU	1483.92683	19042	-3417.33333	-4856.66568
7	TDAU	1148.4878	12447.5	-4352	-5259.01728
8	TDAU	1213.31707	13855	-4059.41667	-5136.58843
9	TDAU	1780.53659	25004.5	-2585.83333	-4564.36098
10	TDAU	1465.12195	18726.5	-3425.75	-4909.88224
11	TDAU	1209.7561	13803	-4109.08333	-5143.73906
12	TDAU	1452.53659	18568	-3408.25	-4890.38357
13	TDAU	1239.70732	14456.5	-4077	-5122.24462
14	TDAU	1522.4878	20080	-3241.41667	-4819.76122
15	TDAU	1070.02439	11333.5	-4404.58333	-5272.32511
16	TDAU	1605.78049	21575	-3077.08333	-4761.93021
17	TDAU	1548.46341	20512	-3219	-4786.83993
18	TDAU	1627.63415	22179.5	-2942.91667	-4740.89675
19	TDAU	1830.26829	25850.5	-2507.5	-4585.41229
20	TDAU	2164.63415	32192	-1758.83333	-4259.4908
21	TDAU	1265.4878	14932	-3988.5	-5113.70572
22	TDAU	1675.70732	23073	-2820.16667	-4655.21868
23	TDAU	2384.17073	36708.5	-915.416667	-3983.08693
24	TDAU	2384.17073	36708.5	-915.416667	-3983.08693
25	TDAU	1990.68293	29169	-1968.91667	-4378.24451
26	TDAU	1694.46341	23465.5	-2779.33333	-4689.50309
27	TDAU	1681.58537	22969.5	-2854.5	-4606.00779
28	TDAU	1356.4878	16701.5	-3667.16667	-4972.77099
29	TDAU	1229.5122	14373.5	-4028.75	-5145.47772
30	TDAU	932.487805	8641	-4890.08333	-5498.11038
31	TDAU	1511.90244	19558	-3416.41667	-4884.09447
32	TDAU	1323.2439	15866	-3931.66667	-5097.87435
33	TDAU	1057.73171	10955	-4482.91667	-5306.5429
34	TDAU	1057.73171	10955	-4482.91667	-5306.5429
35	TDAU	1592.73171	21429.5	-3049.08333	-4734.93909
36	TDAU	1015.34146	9889.5	-4634.08333	-5330.01497
37	TDAU	971.390244	9452	-4635.91667	-5407.17348
38	TDAU	1434.56098	17995	-3567.75	-4937.41297
39	TDAU	1316.92683	15850	-3963.41667	-5103.02331
40	TDAU	1143.97561	12405.5	-4385.33333	-5269.0489
41	TDAU	1413.63415	18144.5	-3372.83333	-4878.18119
42	TDAU	1182.82927	13463.5	-4209	-5201.67983
43	TDAU	1308.60976	15745	-3859.83333	-5069.76251
44	TDAU	1220.73171	14043.5	-4123.5	-5158.9016

45	TDAU	910.536585	8069.5	-4987.25	-5506.6942
46	TDAU	1203.14634	13764.5	-4113.5	-5193.79912
47	TDAU	1414.17073	18033.5	-3587.08333	-4998.41684
48	TDAU	1775.21951	24850	-2544.08333	-4509.98511
49	TDAU	1527.2439	20146.5	-3155	-4758.26897
50	TDAU	1328.34146	16220.5	-3825.83333	-5072.59062

ANEXO 3: ANÁLISIS DE VARIANZA Y COMPARACIÓN DE MEDIAS PARA LOS TRATAMIENTOS

Tabla 25. Análisis de varianza para tratamientos de desamargado de los granos de tarwi por UHPLC

	Df	Df Sum Sq Mean Sq		F value	Pr(>F)	
		Sum Sq	Mean Sq			
TRATAMIENTO	2	102639	51319	10.84	0.0102	*
Residuals	6	28401	4733			
Signif. codes:	0	'***' 0.001	'**' 0.01	'*' 0.05	'.' 0.1	' ' 1

Tabla 26. Test de Tukey para comparación de medias de tratamientos de desamargado de los granos de tarwi por UHPLC

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

Fit: aov(formula = AMOUNT ~ TRATAMIENTO)

\$TRATAMIENTO				
	diff	lwr	upr	p adj
TDAM-TAH	-145.3177	-317.67745	27.04212	0.0913961
TDAU-TAH	115.7063	-56.65345	288.06612	0.1789083
TDAU-TDAM	261.024	88.66421	433.38379	0.0083798

TAH: Tarwi amargo hidratado
 TDAM: Tarwi desamargado asistido por microondas
 TDAU: Tarwi desamargado asistido por ultrasonido

Tabla 27. Análisis de varianza para tratamientos de desamargado de los granos de tarwi por espectroscopía dieléctrica de microondas a una frecuencia de 750 MHz

	Df	Df Sum Sq Mean Sq		F value	Pr(>F)	
		Sum Sq	Mean Sq			
TRATAMIENTO	2	6965332	3482666	40.11	1.25e-14	***
Residuals	147	12762453	86819			
Signif. codes:	0	'***'	0.001	'**'	0.01	'*' 0.05
						'.' 0.1
						' ' 1

Tabla 28. Test de Tukey para comparación de medias de tratamientos de desamargado de los granos de tarwi por espectroscopía dieléctrica de microondas a una frecuencia de 750 MHz

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

Fit: aov(formula = `750 MHz` ~ Tratamiento)

\$Tratamiento				
	diff	lwr	upr	p adj
TDAM-TAH	-38.41366	-177.9425	101.1151	0.7916146
TDAU-TAH	436.70244	297.1736	576.2312	0.0000000
TDAU-TDAM	475.1161	335.5873	614.6449	0.0000000

TAH: Tarwi amargo hidratado
 TDAM: Tarwi desamargado asistido por microondas
 TDAU: Tarwi desamargado asistido por ultrasonido

Tabla 29. Análisis de varianza para tratamientos de desamargado de los granos de tarwi por espectroscopía dieléctrica de microondas a una frecuencia de 5800 MHz

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
TRATAMIENTO	2	12293494	6146747	71.2	<2e-16	***
Residuals	147	12690188	86328			
Signif. codes:	0	‘***’ 0.001	‘**’ 0.01	‘*’ 0.05	‘.’ 0.1	‘ ’ 1

Tabla 30. Test de Tukey para comparación de medias de tratamientos de desamargado de los granos de tarwi por espectroscopía dieléctrica de microondas a una frecuencia de 5800 MHz

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

Fit: aov(formula = `5800 MHz` ~ Tratamiento)

\$Tratamiento	diff	lwr	upr	p adj
TDAM-TAH	66.46517	-177.9425	205.5984	0.4965381
TDAU-TAH	637.79161	498.6584	776.9248	0.0000000
TDAU-TDAM	571.32644	432.19323	710.4597	0.0000000

TAH: Tarwi amargo hidratado
 TDAM: Tarwi desamargado asistido por microondas
 TDAU: Tarwi desamargado asistido por ultrasonido

ANEXO 4: RESUMEN DE LOS DATOS DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO NO INVASIVO

Tabla 31. Cuantificación de la lupanina en ambos métodos

Tratamiento	HPLC	MDS-750 MHz ϵ''
	Lupanina	Lupanina
TAH	478.870 \pm 105.647	981.67 \pm 260.19
TDAM	333.552 \pm 20.379	943.26 \pm 278.69
TDAU	594.576 \pm 51.221	1418.37 \pm 339.25

Tabla 32. Resumen de los datos para la validación del método no invasivo de espectroscopía dieléctrica de microondas

Método de cuantificación	Frecuencia óptima	R2	Chi-cuadrado
UHPLC		0.999	P < 0.05
MDS	750 MHz	0.963	



UNIVERSIDAD NACIONAL DE JULIACA

"Universidad Pública de Calidad"



UNIVERSIDAD NACIONAL DE JULIACA

"Universidad Pública de Calidad"