

ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA Y AGROINDUSTRIA

**VALORIZACIÓN DEL LUPINO (*LUPINUS MUTABILIS*) Y DEL
SUBPRODUCTO DE LAVADO DE LAS SEMILLAS, MEDIANTE LA
PRODUCCIÓN DE CARNE VEGETAL, SUSTITUTO LÁCTEO Y
EXTRACCIÓN DE PRINCIPIOS BIOACTIVOS**

**OBTENCIÓN DE PRINCIPIOS ACTIVOS DE LAS AGUAS DE
DESAMARGADO DEL LUPINO (*Lupinus mutabilis*) Y SUS
POSIBLES APLICACIONES.**

**TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR PRESENTADO COMO
REQUISITO PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERA
AGROINDUSTRIAL**

VÁNGELIS ALEJANDRA ORTIZ CEPEDA

vangelis.ortiz@epn.edu.ec

DIRECTOR: JENNY CUMANDA RUALES NAJERA

jenny.ruales@epn.edu.ec

DMQ, febrero del 2022

CERTIFICACIONES

Yo, VÁNGELIS ALEJANDRA ORTIZ CEPEDA declaro que el trabajo de integración curricular aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

VÁNGELIS ALEJANDRA ORTIZ CEPEDA

Certifico que el presente trabajo de integración curricular fue desarrollado por Vángelis Ortiz, bajo mi supervisión.

JENNY CUMANDÁ RUALES NAJERA
DIRECTOR

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

A través de la presente declaración, afirmamos que el trabajo de integración curricular aquí descrito, así como el (los) producto(s) resultante(s) del mismo, son públicos y estarán a disposición de la comunidad a través del repositorio institucional de la Escuela Politécnica Nacional; sin embargo, la titularidad de los derechos patrimoniales nos corresponde a los autores que hemos contribuido en el desarrollo del presente trabajo; observando para el efecto las disposiciones establecidas por el órgano competente en propiedad intelectual, la normativa interna y demás normas.

VÁNGELIS ALEJANDRA ORTIZ CEPEDA

JENNY CUMANDÁ RUALES NAJERA

DEDICATORIA

A mis padres que me han apoyado incondicionalmente en todos los momentos más importantes de mi vida y me han brindado todas las oportunidades para salir adelante.

A mi hermana por ser mi mejor amiga y siempre estar conmigo cuando más lo necesito.
Gracias por apoyarme y entenderme en todo momento.

Los amo con todo mi corazón.

AGRADECIMIENTO

A Dios por siempre cuidarme en los momentos más complicados de mi vida y acompañarme durante todo este tiempo con todas sus bendiciones.

A Pauly por ser una gran amiga durante toda la carrera, gracias por motivarme en cada momento y siempre apoyarme. Te quiero mucho.

A los profesores de la EPN que tienen pasión por enseñar, que han sabido motivar y siempre han sido empáticos por todo el esfuerzo que conlleva estudiar una carrera en esta Universidad.

A mis amigos de la carrera por acompañarme en las largas jornadas de estudio y trabajos, gracias por dejarme compartir alegrías y tristezas con ustedes.

ÍNDICE DE CONTENIDO

CERTIFICACIONES	I
DECLARACIÓN DE AUTORÍA	II
DEDICATORIA	III
AGRADECIMIENTO	IV
RESUMEN	VII
ABSTRACT	VIII
1 INTRODUCCIÓN	1
1.1 OBJETIVO GENERAL	1
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	2
1.3 ALCANCE	2
1.4 MARCO TEÓRICO	3
1.4.1 DEFINICIÓN DEL PRODUCTO	3
1.4.2 MATERIAS PRIMAS	4
2 METODOLOGÍA	8
2.1 MATERIALES	8
2.2 MÉTODOS EMPLEADOS	8
2.2.1 DESCRIPCIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN DE LUPANINA A NIVEL DE LABORATORIO	8
2.2.2 DESCRIPCIÓN DEL PROCESO DE OBTENCIÓN DE LUPANINA A NIVEL SEMI-INDUSTRIAL	9
3 RESULTADOS, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	11
3.1 RESULTADOS	11
3.2 CONCLUSIONES	17
3.3 RECOMENDACIONES	17
4 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	17
5 ANEXOS	23
ANEXO I. CÁLCULO DE BALANCES DE MASA Y ENRGÍA DEL PROCESO DE DESAMARGADO Y EXTRACCIÓN DE LUPANINA	24
ANEXO II. FICHAS TÉCNICAS DE EQUIPOS EMPLEADOS EN EL PROCESO DE OBTENCIÓN DE LUPANINA	32
ANEXO III. ELABORACIÓN DE PFD PARA EL PROCESO DE DESAMARGADO Y PROCESO DE EXTRACCIÓN DE LUPANINA	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química de lupanina	7
Figura 2. Diagrama de bloques del desamargado del lupino amargo	13
Figura 3. Diagrama de bloques de la extracción de lupanina	15

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica del lupino	5
Tabla 2. Alcaloides del lupino	6
Tabla 3. Equipos utilizados en las distintas operaciones unitarias	11
Tabla 4. Resultados de los balances de masa del desamargado	13
Tabla 5. Resultados de los balances de masa de la extracción de lupanina	15

RESUMEN

El presente trabajo tiene como objetivo la obtención de compuestos bioactivos del agua de desamargado del lupino. El lupino es una leguminosa con un gran potencial nutricional. Lastimosamente no se puede extender su consumo debido a que genera metabolitos secundarios como es el caso de los alcaloides que además de ser tóxicos le dan un sabor amargo al grano. La eliminación del contenido de alcaloides se realiza mediante un proceso de desamargado que consiste básicamente en un proceso de hidratación o remojo, cocción y lavado. El proceso de desamargado consume una gran cantidad de agua, pero es indispensable para la eliminación de los alcaloides que son hidrosolubles. En el lupino existen alcaloides quinolizidínicos, de los cuales el más importante es la lupanina, que comparado con los demás alcaloides llega hasta un 80 %. El contenido de alcaloides en esta semilla es del 4,2 %, además se puede extraer este compuesto bioactivo mediante procesos de concentración. En este proyecto se plantearon las operaciones unitarias necesarias para la extracción y concentración de lupanina, entre ellas constó el: microfiltrado, concentrado por ósmosis inversa, basificado, mezclado, evaporado y filtrado. Se obtuvo una cantidad de lupanina que representa el 2,5 % de la materia prima empleada de 50 kg. La lupanina actualmente está siendo estudiada para aplicaciones en la medicina como agente anticonvulsivo y en la biotecnología como agente biocida para control de plagas.

PALABRAS CLAVE: desamargado, alcaloides quinolizidínicos, lupanina, lupino, extracción.

ABSTRACT

The objective of this work is to obtain bioactive compounds from the lupine desamargado water. Lupine is a legume with great nutritional potential. Unfortunately, its consumption cannot be extended because it generates secondary metabolites such as alkaloids that, in addition to being toxic, give the grain a bitter taste. The elimination of the alkaloid content is carried out through a de-cluttering process that basically consists of a process of hydration or soaking, cooking, and washing. The desamargado process consumes a large amount of water, but it is indispensable for the elimination of alkaloids that are water-soluble. In lupine there are quinolizidine alkaloids, of which the most important is lupanine, which compared to other alkaloids reaches up to 80 %. The content of alkaloids in this seed is 4.2 %, in addition this bioactive compound can be extracted through concentration processes. In this project, the unit operations necessary for the extraction and concentration of lupanine were proposed, among them were microfiltration, concentrated by reverse osmosis, basification, mixing, evaporating, and filtering. A quantity of lupanine was obtained that represents 2.5% of the raw material used of 50 kg. Lupanine is currently being studied for applications in medicine as an anticonvulsant agent and in biotechnology as a biocidal agent for pest control.

KEYWORDS: debittering, quinolizidine alkaloids, lupanine, lupine, extraction.

1 INTRODUCCIÓN

El lupino es una leguminosa con alto valor nutricional porque contiene fibra dietética, grasa y proteína, también tiene un gran contenido de alcaloides que no son aptos para el consumo humano debido a su toxicidad (Carmali et al., 2010; Córdova et al., 2020; Haro, 2008). Las sustancias antinutricionales o alcaloides de tipo quinolizidina son amargos y tóxicos. Aproximadamente el grano de lupino contiene hasta un 4 % de estos alcaloides por lo que es complicado extender su consumo, por lo tanto, es necesario disminuir su contenido realizando el proceso de desamargado (Vasconcelos, 2021; Resta, Boschin, D'Agostina y Arnoldi, 2008). Lamentablemente en el proceso de desamargado se presenta un consumo abundante del agua, ya que consiste principalmente en la hidratación, cocción y lavado para eliminar el sabor amargo del grano. En el desamargado se dispersan los alcaloides en el agua y esta se elimina en vertederos sin ser tratadas (Haro, 2008).

Actualmente se está investigando las aplicaciones de algunos alcaloides del lupino presentes en las aguas de desamargado, entre ellos destaca la lupanina (Wink, 1993). Este alcaloide quinolizidínico se encuentra hasta en un 80 % en la composición del lupino, tiene una gran actividad bactericida y efecto sedante de gran importancia para biotecnología y medicina (Gross et al, 1983; Pilegaard y Gry, 2009). Además, es importante conocer que para obtener estos componentes se emplean diferentes procedimientos, uno de ellos es la tecnología de membrana, esta incluye a la ósmosis inversa. La ósmosis inversa permite concentrar el componente deseado (El-Salam et al. 2020; Iris, 2018; Singh et al. 2018; Marques, 2020). El principio de ósmosis inversa se basa en un fluido de trabajo (agua de desamargado) que atraviesa una membrana semipermeable para retirar componentes disueltos y al final del proceso el agua esté libre de estos (Cotruvo, Voutchkov, Fawell, Payment, Cunligge y Lattemann, 2010).

Este proyecto busca diseñar un proceso de extracción de un compuesto bioactivo del proceso de desamargado y dar valor agregado a un subproducto del procesamiento del lupino, recuperando la lupanina del agua de procesamiento, para emplearla en el campo industrial en nuevos productos.

1.1 OBJETIVO GENERAL

Obtener compuestos bioactivos de las aguas de desamargado del lupino y analizar las aplicaciones industriales que pueden tener.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Cuantificar el contenido de lupanina en el agua de desamargado del lupino.
- Evaluar el proceso de desamargado del lupino.
- Evaluar la extracción de los compuestos bioactivos del agua de desamargado
- Evaluar el proceso industrial para obtención de lupanina.

1.3 ALCANCE

Se realizará una revisión bibliográfica para conocer la cantidad de lupanina que contiene las aguas de desamargado del lupino. Esta leguminosa no puede consumirse directamente porque los alcaloides que contienen son tóxicos para la salud y le dan un sabor amargo al lupino. Por lo tanto, se buscaría aplicaciones industriales de la lupanina aprovechando el agua de desamargado que se genera por la producción de esta leguminosa (Vasconcelos, 2021; Marques, 2020).

En el proceso de desamargado del lupino se realizará la recepción e hidratación del grano de lupino, en un tanque de acero inoxidable provisto de un sistema tipo canasta para poder sacar las semillas de lupino. Se pasará a un reactor de doble fondo, donde se hará una cocción y se realizará un lavado durante 5 días. Las aguas de lavado serán acumuladas para una posterior extracción de compuestos bioactivos (Córdova et al., 2020; Iris, 2018).

El compuesto bioactivo de interés que se extraerá del agua del proceso de desamargado será la lupanina. Una vez recolectada el agua del proceso de desamargado del lupino se hará un microfiltrado, y la fracción capaz de pasar a la membrana (filtrado) contendrá la lupanina, mientras que la fracción que no logre pasar la membrana (retenido), se eliminará (Singh y Purkait, 2018). Después, las aguas serán sometidas a ósmosis inversa donde se retendrá gran parte de los solutos disueltos orgánicos e inorgánicos (El-Salam, 2003). Se basificará con KOH hasta alcanzar un pH de 6 en un tanque de agitación, se realizará también un mezclado con celite por su capacidad elevada de absorción de agua que permite un mejor manejo del agua de desamargado concentrada. Se usará éter dietílico para filtración en un equipo de filtrado al vacío y se evaporará el éter dietílico en un evaporador rotatorio para obtener la lupanina (Alves et al., 2006; Carmali et al., 2010).

Se realizará además en este estudio, un análisis del proceso de extracción del compuesto bioactivo, identificando entradas y salidas del proceso productivo realizando balances de masa considerando un volumen de aguas de producción para una cantidad determinada

de materia prima de lupino y se establecerá las operaciones unitarias con sus respectivas condiciones. Se seleccionarán los equipos necesarios para efectuar todo el procedimiento, se presentarán las hojas técnicas de los equipos correspondientes y se desarrollará el PFD del proceso.

1.4 MARCO TEÓRICO

En la actualidad el enfoque biotecnológico sobre el estudio de metabolitos secundarios en plantas ha incrementado considerablemente. Los alcaloides son metabolitos secundarios importantes, desempeñan un papel significativo en muchas aplicaciones farmacéuticas por lo que han conseguido una mayor importancia comercial (Ahmad et al., 2013). Las plantas medicinales son una fuente importante de diversos compuestos químicos como los alcaloides. Los alcaloides son metabolitos secundarios que tienen un amplio espectro de aplicaciones farmacológicas y terapéuticas incluyendo anticancerígenos como la homoharringtonina, antipalúdicos como la quinina, antiasmáticos como efedrina, antiarrítmico como quinidina, entre otros (Kittakoop et al., 2014).

El lupino es una semilla que contiene una gran cantidad de alcaloides quinolizidínicos que son muy tóxicos y normalmente el agua que los contiene ha sido empleada como pesticida por su actividad antibacteriana. Las comunidades que se dedican a la producción de esta semilla suelen usar de forma empírica el agua del lupino con fines medicinales, pero se han reportado casos de intoxicación (Saavedra y Uribe, 1995). Por lo tanto, requieren de un pretratamiento capaz de extraer el componente anti nutricional para que las semillas sean adecuadas y seguras para su consumo. Esto puede eliminarse mediante un proceso de remojo o proceso de desamargado. El proceso de desamargado tradicional va acompañado de una cocción y lavado logrando una eliminación del 93 a 97 % del contenido de alcaloides variando condiciones de temperatura y tiempo entre etapas. El lupino en la actualidad es una planta de gran interés por su contenido nutricional, además sus alcaloides se siguen evaluando y estudiando para emplearlo en nuevas aplicaciones industriales (Carvajal-Larenas et al. 2016; Marques, 2020).

En el presente estudio, se propone extraer los compuestos bioactivos presentes en el lupino, aprovechando las aguas de desamargado y brindando un valor agregado a un subproducto de la industrialización del lupino, extrayendo compuestos bioactivos como la lupanina, que va a tener aplicaciones en la industria farmacéutica y en la agroindustria.

1.4.1 DEFINICIÓN DEL PRODUCTO

Los productos naturales son una fuente importante de antibacterianos nuevos y eficaces que se pueden utilizar en la lucha contra la creciente resistencia a los fármacos por parte

de las bacterias. Los alcaloides naturales son un grupo de compuestos orgánicos básicos que poseen nitrógeno con una variedad de actividades biológicas. Existen varias investigaciones clínicas que afirman los diversos efectos farmacológicos como actividades anticancerígenas, antiinflamatorias, antivirales y actividades antibacterianas. Gracias a sus actividades farmacológicas se desarrollan fármacos con alcaloides (Li et al., 2014). Nuevos estudios sobre el mecanismo antibacteriano indican que se puede alterar la membrana celular de las bacterias afectando las funciones del ADN e inhibe la síntesis proteica. Así pues, estos alcaloides naturales son agentes que actúan sobre diversas bacterias por lo que pueden emplearse como compuestos principales para el desarrollo de fármacos antimicrobianos (Kelley et al., 2013).

1.4.2 MATERIAS PRIMAS

Para la extracción de compuestos bioactivos a partir de las aguas de desamargado se requiere de: lupino amargo, agua potable, éter dietílico, celite e hidróxido de potasio. El agua potable permite la hidratación del grano y que se puedan disolver los alcaloides en la misma. La extracción de alcaloides de forma semi industrial se emplean los mismos insumos y materias primas incrementando sus cantidades (Folkman et al., 2002).

LUPINO

El lupino (*Lupinus mutabilis*) también conocido como tarwi o altramuza es una especie vegetal que ha sido estudiada mundialmente, se cultiva en la zona mediterránea y en América. Es una especie anual, posee un alto potencial nutritivo, es insecticida, medicinal y ornamental. Además, existe una baja difusión de sus propiedades nutraceuticas y su contenido de alcaloides que le dan un amargor en sus semillas limitando su consumo (Chineros, 2015). El alto contenido de proteínas y grasa que posee le convierte al lupino en la soya andina. Se estima que el lupino tiene un área total de cultivo en los Andes de aproximadamente 10 000 ha (FAO, 2013).

El lupino es un cultivo rentable en Ecuador porque no requiere de agua de riego. Además, la provincia que presenta la producción más alta de chocho en el país es Chimborazo ya que cuenta con 800 ha. Le siguen Tungurahua y Cotopaxi sumando 350 ha (El Comercio, 2020).

DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DEL LUPINO

El lupino presenta las siguientes características botánicas que se detallan a continuación:

- *Raíz*. Es pivotante, profunda y vigorosa, y puede alcanzar una longitud de hasta 50 cm de profundidad.

- *Hoja*. Tienen menos vellosidades y su color depende del contenido de antocianinas que poseen.
- *Tallo*. Puede alcanzar una altura entre 0,5 hasta 2 m. Tiene un elevado contenido de fibra y celulosa. Su coloración puede ser castaña o verde oscura.
- *Flor*. Presenta inflorescencias ramificadas. Las flores miden cerca de 1,2 cm y presenta una corola de cinco pétalos.
- *Fruto*. Es una legumbre de coloración verdosa cuando es tierna y amarillento cuando es maduro. Su vaina es elíptica y oblonga de 2 cm de ancho, y puede alcanzar 12 cm de longitud.
- *Semilla*. Es de forma ovalada, redonda o casi cuadrangular, pueden medir de 0,5 – 1,5 cm.

(Iris, 2018; Franco, 1991).

TAXONOMÍA DEL LUPINO

En la siguiente Tabla 1 se encuentra la clasificación taxonómica del lupino.

Tabla 1. Clasificación taxonómica del lupino

Orden	Fabales
Suborden	Leguminosae
Familia	Fabaceae
Género	Lupinus
Especie	<i>Lupinus mutabilis Sweet</i>

Fuente: Iris, 2018.

ALCALOIDES EN EL LUPINO

Los alcaloides se clasifican en 6 grupos, en esta clasificación encontramos a los alcaloides de quinolizidina que pertenecen a los alcaloides del lupino. Los alcaloides son sustancias nitrogenadas naturales que se localizan en ciertos vegetales y son termorresistentes (Cheeke y Shull, 1985). En el lupino se encuentran los alcaloides quinolizidínicos o alcaloides de quinolizidina que se sintetizan en las hojas y son transportados por el floema para ser almacenados en hojas, tallos y semillas (Novembre et al. 1999). Los alcaloides quinolizidínicos son un mecanismo de defensa contra herbívoros, microorganismos patógenos y especies que puedan ocasionar competencia (Wink, 1993).

En diferentes especies de lupino se han detectado alrededor de 70 alcaloides de quinolizidina o QA. Los QA son compuestos tóxicos y amargos que estructuralmente se parecen a moléculas de sabor dulce. En el lupino, el contenido total de alcaloides varía considerablemente entre especies y reportes de autores. El contenido de alcaloides se ve afectado por la geografía y las condiciones climáticas del cultivo. Se reporta un contenido de 2,8 a 4,5 % de alcaloides en *Lupinus mutabilis* (Gross et al, 1988; Crews, 2014). Los QA tienen una función activa de pesticida y algunos de ellos son mutagénicos, causan cambios en el ADN dañando células, para una amplia gama de organismos (Wink, 1985).

Los alcaloides de quinolizidina tienen propiedades medicinales y farmacológicas, pueden actuar como antiinflamatorio, antipirético, hipotensivo, estimulante, antirrítmico, entre otros (Bokiewie-Kozłowska et al. 2007).

En la siguiente Tabla 2 se enlista el contenido de alcaloides en la semilla del lupino.

Tabla 2. Alcaloides del lupino

Alcaloide	Composición (%)
Lupanina	46 - 84,5
D-lupanina	13
Esparteína	6,6 – 19,1
3-hidroxlupanina	12
13-hidroxlupanina	1,6 – 14,9
4-hidroxlupanina	1,1 – 8,7
Angustifolina	0,6 – 5,4
Ammodendrina	0,23
Multiflorita	0,14
Isolupanina	3

Fuente: Gross et al., 1983

LUPANINA

Entre los alcaloides de quinolizidina, la lupanina y esparteína, son los más amargos y los más tóxicos (Aguilera y Trier, 1978). Las intoxicaciones debido a estos compuestos pueden causar convulsiones, temblores y muerte por paro respiratorio o cardiaco debido a que tienen un efecto sedante sobre el sistema nervioso central (Trugo et al., 2003). La lupanina destaca porque se encuentra en mayor proporción que la esparteína. Su fórmula molecular es $C_{15}H_{24}N_2O$ y su peso molecular de 248,36 (National Center for Biotechnology Information, 2022).

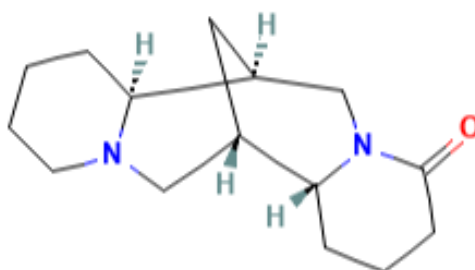


Figura 1. Estructura química de lupanina

Fuente: National Center for Biotechnology Information, 2022

La lupanina tiene menor toxicidad que la esparteína, en dosis altas llega a detener el corazón y en dosis baja disminuye la frecuencia cardiaca. Este compuesto es un espasmolítico (Duke, 1987; Bruneton, 1993; Schmitt, 1980).

La dosis letal de lupanina se ha determinado en aproximadamente 100 mg/kg de semillas de altramuza. Por esta razón, el consumo para el ser humano es muy tóxico y solo puede eliminarse mediante lavados sucesivos y cocción (Crews, 2014).

Las aplicaciones de la lupanina abarcan la medicina y biotecnología. En la medicina se han realizado estudios donde se está evaluando la conducta convulsiva en pacientes con crisis epilépticas para determinar dosis efectivas y descubrir nuevos fármacos anticonvulsivos (Villalpando et al. 2019). En biotecnología la lupanina es aplicada como agente biocida para control de plagas de *Thrips tabaci* Lindeman en cultivos de cebolla que perjudican el rendimiento de las cosechas (Añamuro, 2016).

AGUA POTABLE

Los alcaloides al presentar un carácter básico son hidrosolubles en agua, insolubles en disolventes apolares y solubles en los alcoholes porque existe una mayor compatibilidad. Por lo tanto, el agua potable fue indispensable en el desamargado porque el contenido de alcaloides pasará al agua de trabajo (Czrnecka, 1977).

CELITE

Este actúa como un agente auxiliar de filtración. Es un material inerte que no es soluble en agua y que atrapa sólidos en suspensión del agua de desamargado permitiendo concentrar sólidos en suspensión muy finos (Sthal, 1969).

ÉTER DIETÍLICO

El éter dietílico permite extraer de la torta el producto deseado de forma selectiva. Además, al ser lo suficientemente volátil se eliminaría fácilmente mediante evaporación obteniendo el alcaloide de interés (Sthal, 1969).

HIDRÓXIDO DE POTASIO

Se emplea hidróxido de potasio para absorber la mayor cantidad de agua posible (Sthal, 1969).

2 METODOLOGÍA

2.1 MATERIALES

- Lupino amargo
- Hidróxido de potasio CAS 1310-58-3
- Éter dietílico CAS 60-29-7
- Celite 545 CAS 68855-54-9

2.2 MÉTODOS EMPLEADOS

2.2.1 DESCRIPCIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN DE LUPANINA A NIVEL DE LABORATORIO

Con el fin de definir el proceso de extracción de la lupanina se hace el desarrollo de un proceso primero a nivel de laboratorio. La obtención de la lupanina se realizó mediante la extracción de los alcaloides del agua de desamargado en la producción del lupino llevándose a cabo en dos procesos.

PROCESO DE CONCENTRACIÓN DEL AGUA DE DESAMARGADO

Las aguas de lixiviación del proceso de desamargado del lupino fueron recolectadas en un tanque de almacenamiento. La concentración de las muestras se realizó empleando ósmosis inversa. El equipo Celgard X-10, un sistema de ósmosis inversa provisto de membranas con un poro de 0,05 μm , y 20 cm de longitud se utiliza (Wink et al., 1995).

PROCESO DE EXTRACCIÓN DE LUPANINA DE LAS AGUAS DE LIXIVIACIÓN DE LAS SEMILLAS DE LUPINO

Para la extracción de la lupanina es necesario basificar con medio básico las aguas de lixiviación concentradas empleando hidróxido de potasio al 25 %. Posteriormente, se mezcló con celite hasta obtener una mezcla húmeda uniforme para facilidad de filtración

de lupanina. Esta mezcla se la extrajo por filtración al vacío de forma sucesiva con éter dietílico a 40 °C hasta obtener los extractos secos. El extracto final se constituyó principalmente lupanina al 90 % junto con otros alcaloides de menor proporción (Alves y Coelho, 2002).

2.2.2 DESCRIPCIÓN DEL PROCESO DE OBTENCIÓN DE LUPANINA A NIVEL SEMI-INDUSTRIAL

Una vez definido el proceso a nivel de laboratorio, descrito previamente, se procede a describir el proceso de obtención de la lupanina a nivel semi-industrial.

Se encuentra a continuación la descripción del proceso de extracción de lupanina a nivel semi-industrial. El proceso de extracción parte del proceso de desamargado del lupino con la acumulación de las aguas de lixiviación ricas en alcaloides y su posterior extracción de lupanina. Se realizaron los respectivos balances de masa indicados en el ANEXO I estableciendo como base de cálculo una generación de aguas de lixiviado a partir de 50 kg de lupino amargo.

RECEPCIÓN

Se recibió el lupino amargo con contenido de alcaloides y se consideró 50 kg de lupino para trabajar.

HIDRATADO

El lupino se lo colocó en una proporción de 1:6 con agua durante 12 h a una temperatura de 17 °C en un tanque de acero inoxidable con un sistema de canasta interior que almacenó al lupino. El grano del lupino incrementa su contenido de agua para liberar los alcaloides contenidos con mayor facilidad (Jiménez et al., 2007).

ESCURRIDO

Pasado las 12 horas de hidratación del lupino amargo, se escurrió el agua viscosa amarillenta generada para ser almacenada (Jiménez et al., 2007).

COCCIÓN

La canasta interior del tanque de hidratación permitió transportar el lupino a un tanque de doble fondo donde se realizó la cocción. En la cocción se colocó al lupino en una proporción de 1:3 con agua a 90 °C y cada media hora se realizó cambio de agua manteniendo la proporción. Este proceso duró una hora. Una vez terminada esta etapa, el agua de cocción fue llevada al tanque de almacenamiento. Se consideró un 3 % de pérdidas del agua como vapor durante el proceso de cocción en cada cambio de agua (Villacrés et al., 2000).

LAVADO

Nuevamente la canasta interior desmontable permitió trasladar al lupino al tanque de lavado. Se colocó al lupino en proporciones de 1:3 con agua durante 5 días a 17 °C. Se cambió el agua diariamente y el agua eliminada fue reservada para almacenarla.

Toda el agua reservada que se acumuló de las etapas del desamargado se llevaron a un tanque de almacenamiento para extraer los compuestos bioactivos disueltos que se liberaron del lupino (Villacrés et al., 2000).

PROCESO DE EXTRACCIÓN DE LA LUPANINA

MICROFILTRADO

El agua de lixiviación del desamargado pasó por un proceso de microfiltrado, se empleó un poro de 10 µm a 17 °C hasta que se hayan liberado los sólidos en suspensión e impurezas quedando en la fracción del retenido y teniendo como fracción de interés el filtrado. Las impurezas que quedan en esta etapa son aproximadamente del 3 % que corresponde a pequeños pedazos de ramas o materias extrañas (Gabelman y Hwang, 1999).

CONCENTRADO (ÓSMOSIS INVERSA)

El agua resultante del microfiltrado pasó por un proceso de ósmosis inversa donde su membrana de poro de 0,05 µm permitió concentrar los alcaloides quedándose en la fracción del retenido mediante la aplicación de presión de 9 atm liberando al agua de compuestos que estén disueltos en ella (Gabelman y Hwang, 1999). La fracción concentrada con alcaloides contiene alrededor del 50,59 % y la fracción restante, que es el filtrado, es agua libre de alcaloides. Esta agua libre de alcaloides se puede usar nuevamente para el proceso de desamargado de otro proceso (Carmali et al., 2010).

BASIFICADO

La fracción con alcaloides concentrada se basificó añadiendo hidróxido de potasio en un 25 % alcanzando un pH de 6 para ser mezclado en un tanque de agitación a 200 rpm con el fin de atrapar la mayor cantidad de agua posible (Carmali et al., 2010).

MEZCLADO

La fracción con alcaloides basificada se mezcló con celite a una proporción de 1:1 a temperatura ambiente. Se mezcló a 100 rpm hasta tener una mezcla húmeda en el tanque de agitación. Es necesario este proceso porque el celite es un agente inerte, insoluble en

agua que permite el paso de sólidos muy finos porque atrapa sólidos en suspensión de la fracción con alcaloides basicada o torta para la posterior filtración (Carmali et al., 2010).

FILTRADO AL VACÍO

Terminado el mezclado se procedió a filtrar al vacío. Se añadió éter dietílico en 3,33 veces más a la torta a 40 °C obteniendo la lupanina con éter dietílico al final del filtrado (Carmali et al., 2010).

EVAPORADO AL VACÍO

El éter de la lupanina se extrajo mediante un sistema al vacío a una temperatura de 35 °C obteniendo la lupanina pura (Carmali et al., 2010).

En la Tabla 3 se indican los equipos empleados para cada operación unitaria desde el proceso de desamargado hasta la extracción de lupanina. En el ANEXO II se encuentran las hojas técnicas de cada equipo para la obtención de lupanina a nivel semiindustrial.

Tabla 3. Equipos utilizados en las distintas operaciones unitarias

Operación Unitaria	Equipo	Modelo
HIDRATADO	Tanque de almacenamiento	SXR - RQ - 800
COCCIÓN	Tanque de doble fondo	QIANGZHONG
LAVADO	Tanque de almacenamiento	SXR - RQ - 800
MICROFILTRADO	Equipo de microfiltrado	JXWL
CONCENTRADO (ÓSMOSIS INVERSA)	Equipo de Purificación Industrial de ósmosis inversa	JXUF
BASIFICADO	Tanque de mezclado	KDE-M-800L
MEZCLADO	Tanque de mezclado	KDE-M-800L
FILTRADO	Equipo de Filtrado al vacío	G5-50
EVAPORADO	Equipo de Evaporado al vacío	FFE-200

3 RESULTADOS, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

3.1 RESULTADOS

PROCESO DE DESAMARGADO DE LA LUPANINA

Según Jiménez et al. (2007) el proceso de desamargado o desbarbado es necesario para la semilla de lupino, la etapa de remojo o de hidratado podría durar de 12 hasta 20 h ya que depende de la cantidad de materia prima que se vaya a emplear. El remojo incrementa

el contenido de agua en la semilla para extraer los alcaloides en etapas posteriores. Además, Jiménez-Martínez et al. (2003) recalca que la cocción es esencial porque inactiva la capacidad de germinación de las semillas, elimina microorganismos que puedan estar presentes para mantener la seguridad alimentaria, reduce la pérdida de proteínas mediante coagulación y se incrementa la lixiviación de los alcaloides debido al aumento de la permeabilidad de la pared celular. El tiempo de cocción ronda las 0,5 – 6 h. En la experimentación se empleó un tiempo de hidratado de 12 horas ya que la cantidad manejada fue de 50 kg, además se encontraría en el rango que recomiendan para realizar el remojo manteniendo las mejores características organolépticas y obteniendo un alimento seguro para el consumo.

Menciona Dagnia et al. (1992) que la eliminación de alcaloides posterior al remojo y cocción se puede realizar mediante vía biológica, química o proceso acuoso también conocido como lavado. Se encuentra por vía biológica la germinación, fermentación y digestión biológica cuando los granos tienen un contenido de 1,1 %. En procesos químicos se emplean para granos con un contenido de alcaloides del 4,2 % pero presentan problemas en el proceso ya que existen pérdidas de masa, se tiene incertidumbre de la seguridad química del grano y existe un impacto ambiental negativo. Generalmente el proceso acuoso tradicional es mayoritariamente empleado a nivel comercial para remoción de alcaloides y se emplean para granos con un contenido de alcaloides del 4,2 % en adelante. En el proceso de desamargado de la experimentación se empleó el proceso acuoso tradicional porque Carvajal-Larenas et al. (2013) señala que en este proceso se evita el uso de químicos al ambiente y no existen cambios en la calidad del producto comparado con el proceso biológico y químico. Aunque en el proceso acuoso los inconvenientes que se pueden generar es el consumo excesivo de agua.

Se presenta a continuación en la Figura 2 el diagrama de bloques realizado para el desamargado del lupino.

DIAGRAMA DE BLOQUES

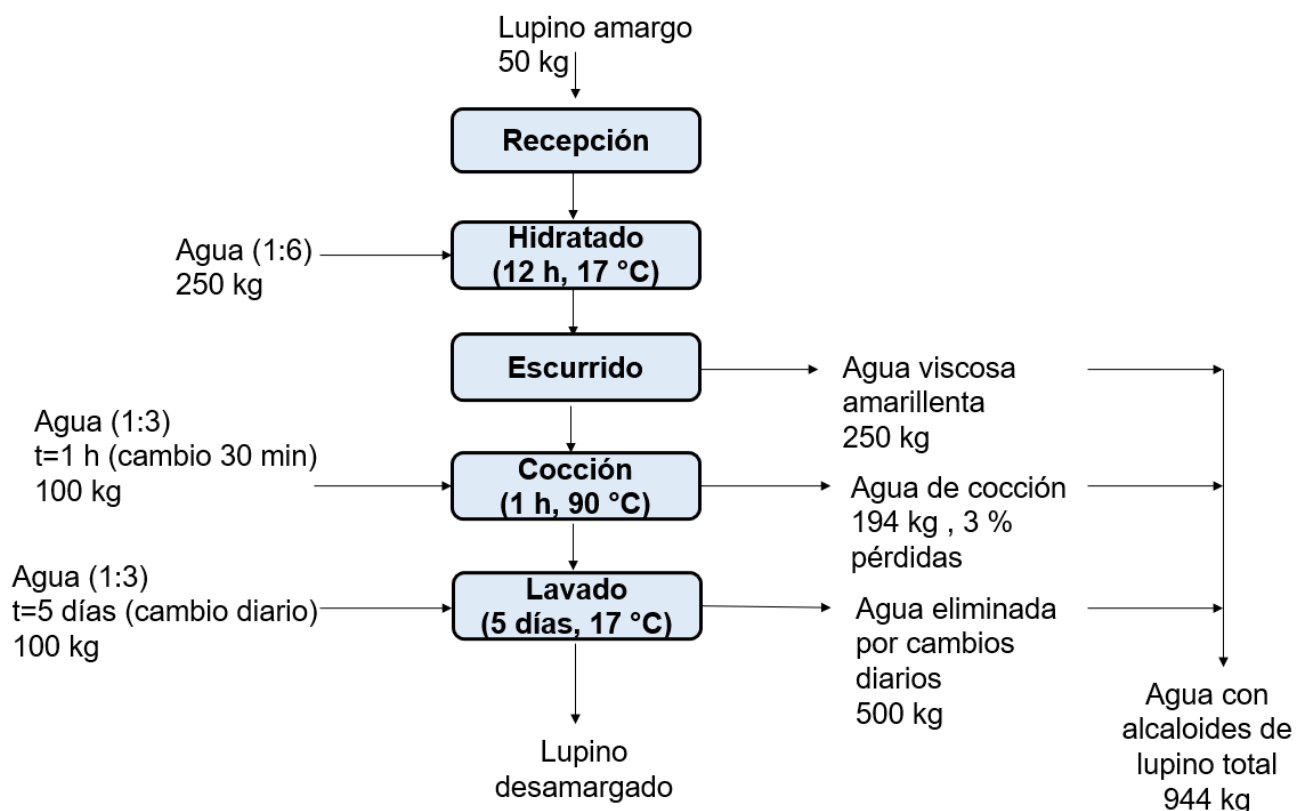


Figura 2. Diagrama de bloques del desamargado del lupino amargo

Se presenta a continuación los balances de masa obtenidos del proceso de desamargado empleando 50 kg de lupino como materia prima en la experimentación en la siguiente Tabla 4.

Tabla 4. Resultados de los balances de masa del desamargado

Proceso	Ingreso	Salida
Hidratado	250 kg (agua)	250 kg (agua del hidratado)
Cocción	200 kg (agua)	194 kg (agua de cocción)
Lavado	500 kg (agua)	500 kg (agua de lavado)

El total de agua que se acumuló en el proceso de desamargado fue de 944 kg para 50 kg de lupino. Esto quiere decir que, para 1 kg de lupino, se requieren 18,88 veces la cantidad de agua para el proceso de desamargado. El rendimiento fue calculado a partir de la ecuación 3.1.

$$\text{Rendimiento} = \frac{\text{Cantidad total de agua empleada}}{\text{Cantidad total de lupino}} = \frac{944 \text{ kg}}{50 \text{ kg}} = 18,88$$

Ecuación 3.1. Rendimiento del agua de desamargado para el lupino

PROCESO DE EXTRACCIÓN DE LA LUPANINA

El microfiltrado fue seleccionado para eliminar impurezas contenidas en el agua de desamargado, la fracción retenida concentrará las impurezas mientras que la fracción que pasó es la cantidad de agua libre de impurezas. El proceso de concentrado de ósmosis inversa se desea retener en la membrana los alcaloides empleando un poro muy pequeño de 0,05 μm mientras se emplea una fuerza de 9 atm para separar la lupanina del agua de desamargado. Según Carmali et al. (2010), el poro ideal debido a estudios realizados el más adecuado para concentrar era el empleado en la experimentación. Debido a que se tiene una menor cantidad de agua y los alcaloides incrementaron en proporción es necesario atrapar la mayor cantidad de agua posible por lo que se basificó con hidróxido de potasio mezclándolo hasta que sea uniforme. El hidróxido de potasio permite saturar el agua permite precipitar a los alcaloides contenidos. Por lo tanto, los alcaloides pueden ser más fácilmente manejados y extraídos. El celite es el agente auxiliar para la posterior filtración, una vez que se emplee en la cantidad de 1 a 1, al ser un elemento inerte pueda separar el agua que se empleará para la filtración para obtener una mezcla húmeda homogénea. La utilización de éter dietílico necesariamente debe ser en una mayor proporción que la mezcla húmeda porque se hará de forma continua para garantizar que el filtrado contenga únicamente lupanina adherida con una pequeña cantidad éter a la salida del proceso y se pueda eliminar la mayor cantidad de los componentes restantes. El evaporado al vacío se realiza para tener el componente con la mayor pureza posible. En el filtrado y evaporado se emplean a temperaturas no superiores a 40 °C debido a que se desea que no se degrade la lupanina ya que esta tiene un punto de fusión a temperaturas superiores a 41 °C según indica Rodríguez (2009).

Se presenta a continuación en la Figura 3 el diagrama de bloques realizado para el desamargado del lupino.

DIAGRAMA DE BLOQUES

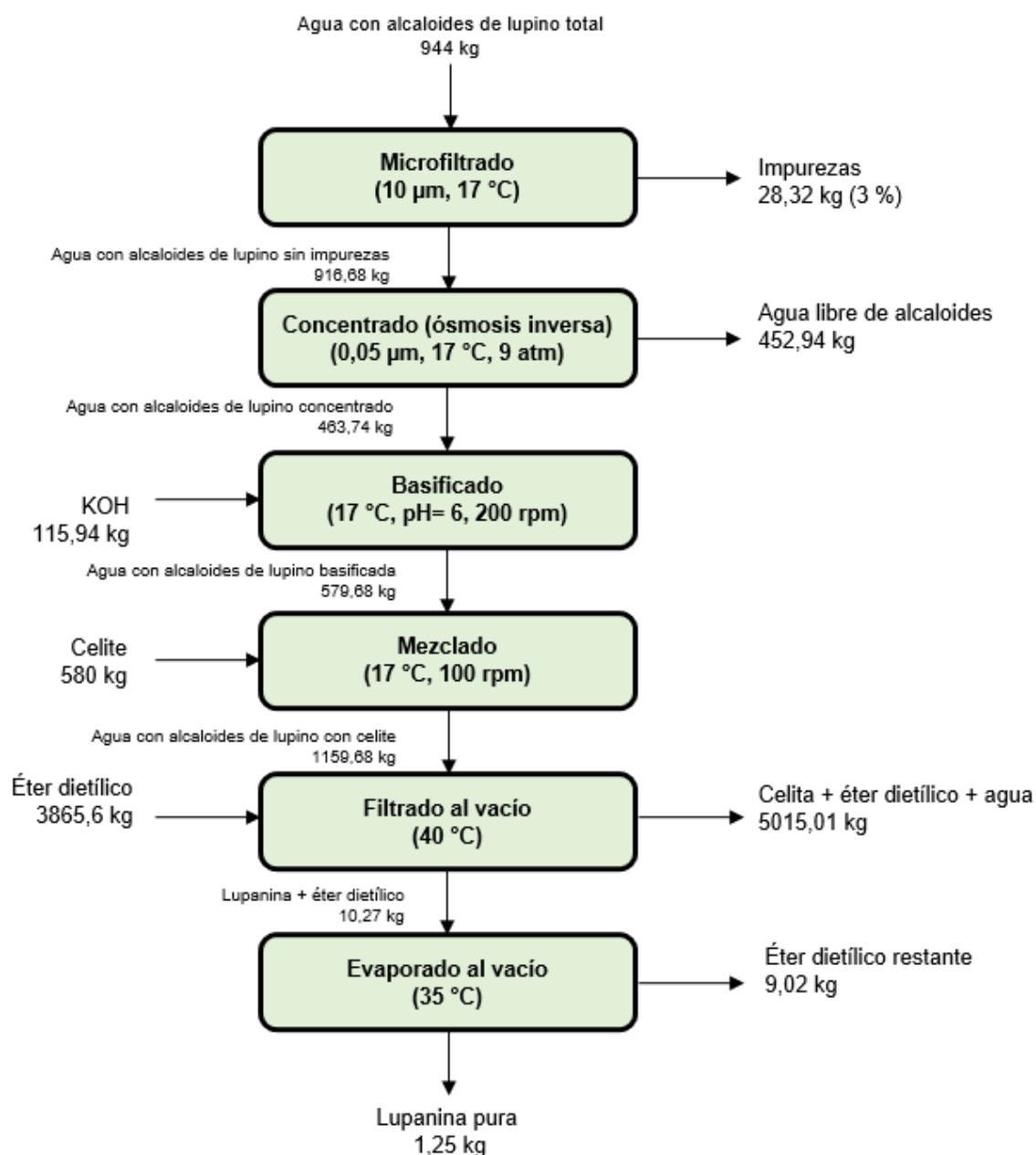


Figura 3. Diagrama de bloques de la extracción de lupanina

A continuación, en la siguiente Tabla 5 se encuentra el resumen de los balances de masa para la extracción de lupanina en cada etapa.

Tabla 5. Resultados de los balances de masa de la extracción de lupanina

Proceso	Ingreso	Salida
Microfiltrado	944 kg (agua)	28,32 kg (impurezas) 918,68 kg (agua sin impurezas)

Concentrado (ósmosis inversa)	918,68 kg (agua sin impurezas)	452,94 kg (agua libre de alcaloides) 463,74 kg (agua concentrada de alcaloides)
Basificado	463,74 kg (agua concentrada de alcaloides) 115,94 kg (KOH)	579,68 kg (agua basificada)
Mezclado	579,68 kg (agua basificada) 580 kg (celite)	1159,68 kg (agua con celite)
Filtrado al vacío	1159,68 kg (agua con celite) 3865,6 kg (éter dietílico)	5015,01 kg (celite con éter y agua) 10,27 kg (Lupanina con éter)
Evaporado al vacío	10,27 kg (Lupanina con éter)	9,02 kg (éter dietílico) 1,25 kg (Lupanina)

La cantidad de lupanina extraída representa el 2,5 % de la materia prima empleada, este valor se obtuvo con la ecuación 3.2. que se indica a continuación.

$$\text{Rendimiento} = \frac{\text{Cantidad total de lupanina}}{\text{Cantidad total de lupino}} = \frac{1,25 \text{ kg}}{50 \text{ kg}} * 100 = 2,5 \%$$

Ecuación 3.2. Rendimiento porcentual de lupanina

Según indica Carvajal-Larenas et al. (2013), el contenido de alcaloides en el grano amargo del *Lupinus mutabilis Sweet* es del 4,2 %, además casi llega a abarcar más del 80 % el contenido de lupanina, pero debido a la hidratación, cocción y lavado se eliminan gran parte de los alcaloides y en el estudio que realizó Carmali et al. (2010) se recupera aproximadamente el 2,5 % de lupanina de la cantidad de materia prima empleada.

LUPANINA

La lupanina se la encuentra de forma comercial como Clorhidrato de lupanina y es un producto muy costoso en PHYPROOF (2022) lo identifican con el número CAS 1025-39-4, donde cada mg tiene el precio de 58,50 \$. Además, constituye como un producto natural con potencial farmacéutico y en la agroindustria para control de plagas.

3.2 CONCLUSIONES

- Se presenta una alternativa de valorización de un subproducto de la industrialización del lupino. Se propone el reúso del agua de desamargado que se obtiene luego del tratamiento de ósmosis inversa.
- Se define un proceso tanto a nivel de laboratorio y en base de ello el proceso semi-industrial de obtención de la lupanina.
- Los alcaloides del lupino no deben consumirse porque son tóxicos y pueden eliminarse mediante un proceso de remojo acompañado de cocción y lavado debido a que son hidrosolubles.
- El tiempo entre etapas del proceso de desamargado influye en la remoción del contenido de alcaloides en las semillas del lupino.
- La lupanina extraída puede ser empleada en ámbitos de la medicina para creación de fármacos anticonvulsivos y en biotecnología para evaluar la actividad antimicrobiana al controlar plagas.
- En el proceso de extracción de lupanina se debe controlar que no se supere la temperatura de 41 °C porque degradaría el compuesto.

3.3 RECOMENDACIONES

- Realizar pruebas piloto para verificar el proceso.
- Evaluar los rendimientos y el contenido de lupanina que se extrae.
- Identificar los usos y aplicaciones de la lupanina.

4 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Aguilera, M. y Trier, A. (1978). The revival of lupin. *Food Technology* (32), 70-76.
- [2] Ahmad S, Garg M, Tamboli ET, Abdin MZ, Ansari SH (2013) In vitro production of alkaloids: factors, approaches, challenges, and prospects. *Pharmacogn.* 7(13), 27–33
- [3] Alves, D. y Coelho, I. (2002). Mass transfer in osmotic evaporation: effect of process parameters, *J. Membr. Sci.* 208, 171–179.

- [4] Alves, D., y Coelho, I. (2006). Orange juice concentration by osmotic evaporation and membrane distillation: a comparative study, *J. Food Eng.* 74, 125–133. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.02.019>
- [5] Añamuro, C. (2016). DETERMINACIÓN DEL EFECTO BIOCIDA DEL EXTRACTO ACUOSO DE SEMILLAS DE *Lupinus mutabilis* Sweet (Tarwi) SOBRE *Thrips tabaci* Lindeman (Trips) EN CULTIVOS DE CEBOLLA. UCSM. <http://hdl.handle.net/20.500.12390/115>
- [6] Bobkiewicz-Kozłowska, T., Dworacka, M., Kuczynski, S., Abramczyk, M., Kolanos, R., Wysocka, W., García-Lopez, P. y Winiarska, H. 2007. Hypoglycaemic effect of quinolizidine alkaloids-lupanine and 2-thio-nosparteine on non-diabetic and streptozotocin-induced diabetic rats. *European journal of pharmacology*. 565(1): 240-244.
- [7] Bruneton, J. (1993). *Pharmacognosie, phytochimie. Plantes médicinales*. Lavoisier-Tec et Doc. Paris. 1993. 668-689
- [8] Carmali, S., Alves, V., Coelho, I., Ferreira, L. Lourenzo, A. (2010). Recovery of lupanine from *Lupinus albus* L. leaching Waters. *Separation and Purification Technology*, 38-43. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2010.05.005>
- [9] Cheeke, P. y Shull, L. (1985). *Natural Toxicants in Feed and Poisonous Plants*. Publishing company AVI, INC: Westport, Connecticut.
- [10] Chirinos, M. (2015). Andean Lupin (*Lupinus mutabilis* Sweet) a plant with nutraceutical and medicinal potential. *Revista Bio Ciencias*. 3(3), 163-172.
- [11] Córdova, J., Glorio, P., Camarena, F., Brandolini, A., Hidalgo, A. (2020). Andean lupin (*Lupinus mutabilis* Sweet). Processing effects on chemical composition, heat damage, and in vitro protein digestibility. *Cereals & Grain Association*, 1-9. <https://doi.org/10.1002/cche.10303>
- [12] Cotruvo, J., Voutchkov, N., Fawell, J., Payment, P., Cunliffe, D., & Lattemann, S. (Eds.). (2010). *Desalination technology: health and environmental impacts*. CRC Press.
- [13] Crews, C. (2014). Natural Toxicants: Alkaloids. *Encyclopedia of Food Safety*, 251–260. doi:10.1016/b978-0-12-378612-8.00175-x
- [14] CZRNECKA, E. (1977). Effects of some lupanine alkaloids on rhythm of the isolated hearts. *Acta Polónica Farmacéutica* 24. pp. 545-548.

- [15] Dagnia, S. G., Petterson, D. S., Bell, R. R., & Flanagan, F. V. (1992). Germination alters the chemical-composition and protein-quality of lupin seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 60(4), 419-423.
- [16] Duke, J. (1987). *Handbook of medicinal herbs*. CRC press. Boca raton, Florida. 155.
- [17] El Comercio. (2020). 600 familias productoras de chochos lograron certificación de buenas prácticas agrícolas en esta pandemia. Obtenido de: <https://www.elcomercio.com/actualidad/ecuador/chocho-union-familias-chimborazo-comercializacion.html#:~:text=Chimborazo%20tiene%20la%20mayor%20producci%C3%B3n,provincias%20suman%20unas%20350%20hect%C3%A1reas>. (febrero, 2022).
- [18] El-Salam, A. (2003). MEMBRANE TECHNIQUES. Applications of Reverse Osmosis. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, 3833–3837. DOI:10.1016/b0-12-227055-x/00762-8
- [19] F. E. Carvajal-Larenas, A. R. Linnemann, M. J. R. Nout, M. Koziol & M. A. J. S. van Boekel (2016) *Lupinus mutabilis*: Composition, Uses, Toxicology, and Debittering, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56:9, 1454-1487, DOI: 10.1080/10408398.2013.772089
- [20] FAO, (2013). PRODUCCIÓN ORGÁNICA DE CULTIVOS ANDINOS. Obtenido de: https://www.fao.org/fileadmin/user_upload/mountain_partnership/docs/1_produccion_organica_de_cultivos_andinos.pdf (enero, 2022).
- [21] Folkman, W., Szerechan, J., y Gulewicz, K. (2002). Preparation of alkaloid-rich lupin in plant protection: an effect of the preparations on feeding and development of *Pieris brassicae* L. and *Pieris rapae* L, *J. Plant Protect.* (42), 143–155
- [22] Franco, J. (1991). El tarwi o lupino. Efecto en sistemas de cultivo. Informe final del proyecto Cooperativo GTZ-CIP.
- [23] Gabelman, A., y Hwang. S. (1999). Hollow fiber membrane contactors, *J. Membr. Sci.* (159), 61–106.
- [24] Gross, R., Von Baer, E., Koch, F., Marquard, R., Trugo, L., & Wink, M. (1988). *Chemical composition of a new variety of the Andean lupin (Lupinus mutabilis cv. Inti) with low-alkaloid content*. *Journal of food composition and analysis*, 1(4), 353-361.

- [25] Gross, U., Galindo, R. G., & Schoeneberger, H. (1983). The development and acceptability of lupine (*Lupinus mutabilis*) products. *Plant Foods for Human Nutrition*, 32(2), 155-164.
- [26] Iris, A. (2018). *Lupinus mutabilis* (Tarwi). Leguminosa andina con gran potencial industrial. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú: Fondo Editorial, 12, 15-20.
- [27] Jiménez-Martínez, C., Hernández-Sánchez, H., & Dávila-Ortiz, G. (2003). Lupines: an alternative for debittering and utilization in foods. In: G. Gutiérrez-López, & G. Barbosa-Canovas, *Food Science and Food Biotechnology*. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, 233-252
- [28] Jiménez-Martínez, C., Hernández-Sánchez, H., & Dávila-Ortiz, G. (2007). Diminution of quinolizidine alkaloids, oligosaccharides, and phenolic compounds from two species of *Lupinus* and soybean seeds by the effect of *Rhizopus oligosporus*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87, 1315-1322.
- [29] Kelley, C., Lu, S., Parhi, A., Kaul, M., Pilch, D.S. y Lavoie, E.J. (2013). Antimicrobial activity of various 4- and 5-substituted 1-phenylnaphthalenes. *Eur. J. Med. Chem.* (60), 395–409.
- [30] Kittakoop P, Mahidol C, Ruchirawat S (2014) Alkaloids as important scaffolds in therapeutic drugs for the treatments of cancer, tuberculosis, and smoking cessation. *Curr Top Med Chem* 14(2), 239–252
- [31] Li, N., Tan, S., Cui, J., Guo, N., Wang, W., Zu, Y., Jin, S., Xu, X., Liu, Q. y Fu, Y. (2014). PA-1, a novel synthesized pyrrolizidine alkaloid, inhibits the growth of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* by damaging the cell membrane. *J. Antibiot.* (67), 689–696.
- [32] Marques, C. (2020). A green approach to the debittering of *Lupinus Albus L.* Portugal, Lisboa: Universidad Nova de Lisboa, 8. <http://hdl.handle.net/10362/105927>
- [33] National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 91471, Lupanine. Obtenido de: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Lupanine>.
- [34] Novembre, E., Moriondo, M. y Bernardini, R. (1999). Lupin Allergy in a Child. *Atlanta J Allergy Clin Immunologu*, 104-114.

- [35] PHYPROOF. (2022). (+)-Lupanine hydrochloride. Obtenido de: <https://phyproof.phytolab.com/en/reference-substances/details/lupanine-hydrochloride-85755> (febrero, 2022).
- [36] Pilegaard, K., & Gry, J. (2009). Alkaloids in edible lupin seeds: A toxicological review and recommendations. Copenhagen: Nordic Council of Ministers. <https://doi.org/10.6027/TN2008-605/>
- [37] 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, 490–495.
- [38] Rodríguez, A. (2009). EVALUACIÓN “IN VITRO” DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LOS ALCALOIDES DEL AGUA DE COCCIÓN DEL PROCESO DE DESAMARGADO DEL CHOCHO (*Lupinus mutabilis* Sweet). ESPOCH
- [39] Saavedra, L. y Uribe, L. (1995). Intoxicación por agua de *Lupinus mutabilis* (“Chocho”). *Boletín de Sociedad Peruana de Medicina Interna* (8), 35 – 37.
- [40] Schmitt, H. (1980). *Eléments de pharmacologie*. Flammarion, Paris. p. 356.
- [41] Singh, R. y Purkait, M. (2018). *Membrane Separation Principles and Applications: From Material Selection to Mechanisms and Industrial Uses*. 111-146. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812815-2.00004-1>
- [42] Sthal, E. (1969). *Thin Layer Chromatography—A Laboratory Handbook*, Springer Verlag.
- [43] Trugo, L. C., von Baer, D., & von Baer, E. (2003). LUPIN. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, 3623–3629. doi:10.1016/b0-12-227055-x/00717-3
- [44] Vasconcelos, M. (2021). Debittering of *Lupinus albus* L. using subcritical water extraction. *Universidade Nova de Lisboa*, 7-27. <http://hdl.handle.net/10362/113512>
- [45] Villacrés, E., Caicedo, C., & Peralta, E. (2000). Diagnóstico del procesamiento artesanal, comercialización y consumo del chocho. Zonificación Potencial, Sistemas de Producción y Procesamiento Artesanal del Chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet) en Ecuador. Chocho o lupino producción, fitonutrición, enfermedades y plagas, zonificación, mercado y postcosecha, agroindustria, guía del cultivo de chocho y costos de producción. INIAP-FUNDACYT, 24-41.

- [46] Villalpando, F., Medina, L., Rodríguez, S. y Ventura, C. (2019). Esparteína y Lupanina como fitoterapias anticonvulsivas alternativas. E-CUCBA, (11), 8-17.
- [47] Wink, M. (1985). Metabolism of quinolizidina alkaloids in plants and cell suspension cultures. Primary and Secondary metabolism of plant cell cultures. Springer, Berlin, Alemania. 377, 107 – 116.
- [48] Wink, M., 1993. Quinolizidine alkaloids. Methods in Plant Biochemistry. Academic Press, London, 197 – 239.
- [49] Wink, M., Meissner, C. y Witte, Y. (1995). Patterns of quinolizidine alkaloids in 56 species of the genus *Lupinus*, *Phytochemistry* 38, 139–153.

5 ANEXOS

ANEXO I. CÁLCULO DE BALANCES DE MASA Y ENERGÍA DEL PROCESO DE DESAMARGADO Y EXTRACCIÓN DE LUPANINA

ANEXO II. FICHAS TÉCNICAS DE EQUIPOS EMPLEADOS EN EL PROCESO DE OBTENCIÓN DE LUPANINA DEL LUPINO

ANEXO III. ELABORACIÓN DE PFD PARA EL PROCESO DE DESAMARGADO Y PROCESO DE EXTRACCIÓN DE LUPANINA

ANEXO I

1. BALANCES DE MASA

1.1. Obtención de agua con alcaloides de lupino

1.1.1. Hidratado y Escurrido

En la Figura 1, se presenta el diagrama de los procesos de hidratado y escurrido del lupino; en la Tabla 1, los nombres y el respectivo contenido de cada corriente.

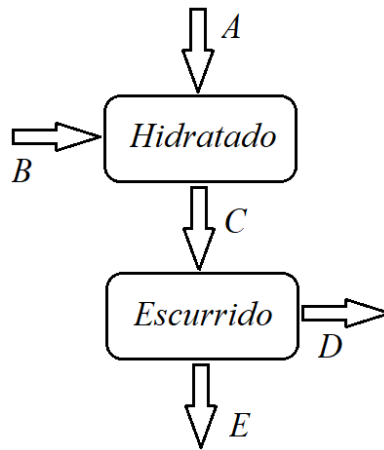


Figura 1. Flujos de los procesos de hidratado y escurrido de lupino

Tabla 1. Nombre y contenido de cada corriente de los procesos de hidratado y escurrido de lupino

Corriente	Contenido	Valor	Unidad
A	Lupino amargo	50	Kg
B	Agua	250	Kg
C	Lupino hidratado	300	Kg
D	Agua viscosa amarillenta	250	Kg
E	Lupino escurrido	50	Kg

Balance de masa del hidratado y escurrido

$$\text{Entradas} = \text{Salidas}$$

$$A + B = D + E$$

**se asume que la cantidad de agua incorporada en el hidratado se retira en la misma cantidad.*

$$A = E = 50 \text{ kg}$$

$$B = D = 250 \text{ kg}$$

1.1.2. Cocción

En la Figura 2, se muestra el diagrama del proceso de cocción del lupino; en la Tabla 2, los nombres y el respectivo contenido de cada corriente.

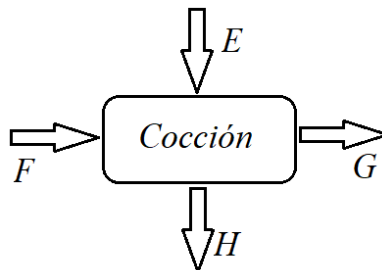


Figura 2. Flujos del proceso de cocción de lupino

Tabla 2. Nombre y contenido de cada corriente del proceso de cocción de lupino

Corriente	Contenido	Valor	Unidad
E	Lupino escurrido	50	Kg
F	Agua	100	Kg
G	Agua de cocción	97	Kg
H	Lupino cocinado	50	Kg

Balance de masa del proceso de cocción

$$\text{Entradas} = \text{Salidas}$$

$$E + F = G + H + \text{Pérdidas}$$

**se consideran 3 kg de pérdidas de agua en la cocción por la evaporación*

Balance de agua

$$F = G + 3 \text{ kg}$$

$$100 \text{ kg} = G + 3 \text{ kg}$$

$$G = 97 \text{ kg}$$

Balance general

$$E + F = G + H + \text{Pérdidas}$$

$$50 \text{ kg} + 100 \text{ kg} = 97 \text{ kg} + H + 3 \text{ kg}$$

$$H = 50 \text{ kg}$$

Balance de energía en la cocción (masa de vapor)

**se considera el cp del agua para el lupino*

$$Q \text{ ganado} = -Q \text{ perdido}$$

$$m_{\text{lup}} * C_p * \Delta T = -m_{\text{vapor}} * \Delta E_v$$

$$50 \text{ kg} * 4,186 \frac{\text{KJ}}{\text{Kg}^\circ\text{C}} * (90 - 17)^\circ\text{C} = -m_{\text{vapor}} * 2260 \text{ KJ/Kg}$$

$$m_{\text{vapor}} = 6,76 \text{ kg}$$

1.1.3. Lavado

En la Figura 3, se presenta el diagrama del proceso de lavado del lupino; en la Tabla 3, los nombres y el respectivo contenido de cada corriente.

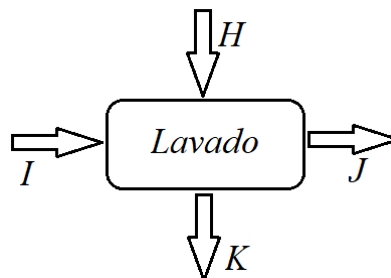


Figura 3. Flujos del proceso de lavado de lupino

Tabla 3. Nombre y contenido de cada corriente del proceso de lavado de lupino

Corriente	Contenido	Valor	Unidad
H	Lupino cocinado	50	Kg
I	Agua	100	Kg
J	Agua eliminada por cambios diarios	100	Kg
K	Lupino desamargado	50	Kg

Balance del proceso de lavado

$$Entradas = Salidas$$

$$H + I = J + K$$

$$H = K = 50 \text{ kg}$$

$$I = J = 100 \text{ kg}$$

Cálculo del agua con alcaloides de lupino total

$$ALT = D + 2G + 5J$$

$$ALT = 250 \text{ kg} + 2 * 97 \text{ kg} + 5 * 100 \text{ kg}$$

$$ALT = 944 \text{ kg}$$

1.2. Obtención de lupanina

1.2.1. Microfiltrado

En la Figura 4, se muestra el diagrama del proceso de microfiltrado del agua con alcaloides de lupino; en la Tabla 4, los nombres y el respectivo contenido de cada corriente.

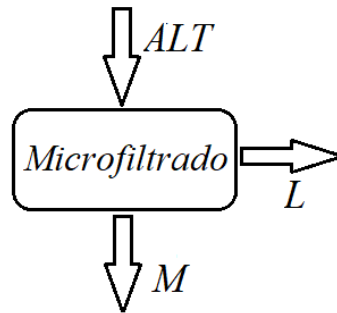


Figura 4. Flujos del proceso de microfiltrado del agua con alcaloides de lupino

Tabla 4. Nombre y contenido de cada corriente del proceso de microfiltrado del agua con alcaloides de lupino

Corriente	Contenido	Valor	Unidad
ALT	Agua con alcaloides de lupino total	944	Kg
L	Impurezas	28,32	Kg
M	Agua con alcaloides de lupino sin impurezas	916,68	kg

Balance de masa del microfiltrado

$$Entradas = Salidas$$

$$ALT = L + M$$

**se consideran 3 % de impurezas*

$$944 \text{ kg} = 0,03 * 944 \text{ kg} + M$$

$$M = 916,68 \text{ kg}$$

1.2.2. Concentrado

En la Figura 5, se muestra el diagrama del proceso de concentrado del agua con alcaloides de lupino; en la Tabla 5, los nombres y el respectivo contenido de cada corriente.

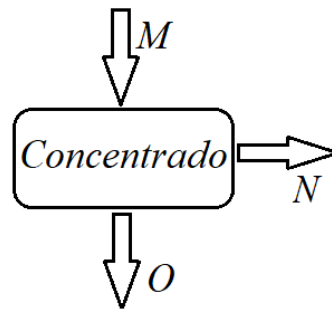


Figura 5. Flujos del proceso de concentrado del agua con alcaloides de lupino

Tabla 5. Nombre y contenido de cada corriente del proceso de concentrado del agua con alcaloides de lupino

Corriente	Contenido	Valor	Unidad
M	Agua con alcaloides de lupino sin impurezas	916,68	Kg
N	Agua libre de alcaloides	452,94	Kg
O	Agua con alcaloides de lupino concentrada	463,74	Kg

**por revisión bibliográfica, se considera que 50,59 % se concentra por ósmosis.*

$$\text{Entradas} = \text{Salidas}$$

$$M = N + O$$

$$916,68 \text{ kg} = N + 0,5059 * (916,68 \text{ kg})$$

$$N = 452,94 \text{ kg}$$

$$O = 463,74 \text{ kg}$$

1.2.3. Basificado

En la Figura 6, se presenta el diagrama del proceso de basificado del agua con alcaloides de lupino concentrada; en la Tabla 6, los nombres y el respectivo contenido de cada corriente.

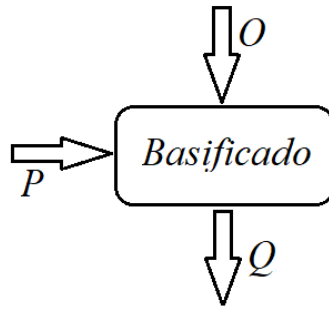


Figura 6. Flujos del proceso de basificación del agua con alcaloides de lupino concentrada

Tabla 6. Nombre y contenido de cada corriente del proceso de basificación del agua con alcaloides de lupino concentrada

Corriente	Contenido	Valor	Unidad
O	Agua con alcaloides de lupino concentrada	463,74	Kg
P	Hidróxido de potasio	115,94	Kg
Q	Agua con alcaloides de lupino basificada	579,68	Kg

Balance de masa del proceso de basificación

$$O = P + Q$$

**se añade 25 % de hidróxido de potasio*

$$463,74 \text{ kg} = 0,25 * (463,74 \text{ kg}) + Q$$

$$Q = 579,68 \text{ kg}$$

$$P = 115,94 \text{ kg}$$

1.2.4. Mezclado

En la Figura 7, se muestra el diagrama del proceso de mezclado del agua con alcaloides de lupino y celite; en la Tabla 7, los nombres y el respectivo contenido de cada corriente.

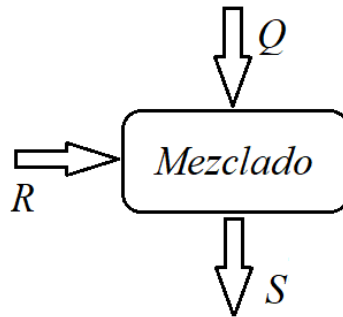


Figura 7. Flujos del proceso de mezclado del agua con alcaloides de lupino y celite

Tabla 7. Nombre y contenido de cada corriente del proceso de mezclado del agua con alcaloides de lupino y celite

Corriente	Contenido	Valor	Unidad
Q	Agua con alcaloides de lupino basicada	579,68	Kg
R	Celite	580	Kg
S	Agua con alcaloides de lupino con celite	1159,68	Kg

Balance de masa del mezclado

**se añade celite en una proporción 1:1*

$$\text{Entradas} = \text{Salidas}$$

$$Q + R = S$$

$$579,68 \text{ kg} + 580 \text{ kg} = S$$

$$S = 1159,68 \text{ kg}$$

1.2.5. Filtrado al vacío

En la Figura 8, se presenta el diagrama del proceso de filtrado al vacío del agua con alcaloides de lupino; en la Tabla 8, los nombres y el respectivo contenido de cada corriente.

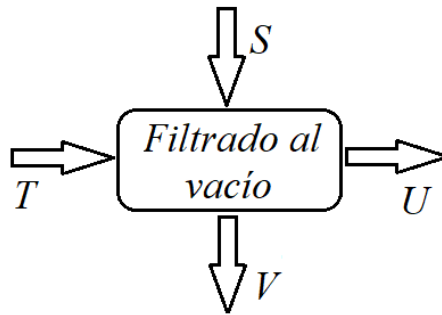


Figura 8. Flujos del proceso de filtrado al vacío del agua con alcaloides de lupino

Tabla 8. Nombre y contenido de cada corriente del proceso de filtrado al vacío del agua con alcaloides de lupino

Corriente	Contenido	Valor	Unidad
S	Agua con alcaloides de lupino con celite	1159,68	Kg
T	Éter dietílico	3865,6	Kg
U	Celite + solución de agua + éter	5015,01	Kg
V	Lupanina + éter	10,27	Kg

Balance de masa de filtrado al vacío

$$\text{Entradas} = \text{Salidas}$$

$$S + T = U + V$$

**el éter dietílico que se añade es 3,33 veces la cantidad de agua con alcaloides que ingresa*

**la cantidad de lupanina se calcula con la referencia de 2,5 % de la cantidad de lupino procesado más el contenido de éter dietílico a evaporar*

$$1159,68 \text{ kg} + 3,33 (1159,68 \text{ kg}) = U + 10,27 \text{ kg}$$

$$U = 5015,01 \text{ kg}$$

1.2.6. Evaporado al vacío

En la Figura 9, se muestra el diagrama del proceso de evaporado al vacío de la lupanina y éter dietílico; en la Tabla 9, los nombres y el respectivo contenido de cada corriente.

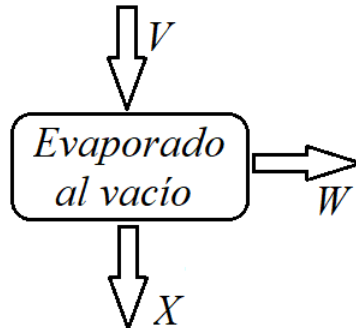


Figura 9. Flujos del proceso de evaporado al vacío de lupanina y éter dietílico

Tabla 9. Nombre y contenido de cada corriente del proceso de evaporado al vacío de lupanina con éter dietílico

Corriente	Contenido	Valor	Unidad
V	Lupanina + éter dietílico	10,27	Kg
W	Éter dietílico recuperado	9,02	Kg
X	Lupanina	1,25	Kg

Balance de masa del evaporado al vacío

$$\text{Entradas} = \text{Salidas}$$

$$V = W + X$$

Balance de lupanina

$$10,27 = W + X$$

$$X = 1,25 \text{ kg}$$

$$W = 9,02 \text{ kg}$$

ANEXO II

FICHA DE CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS DE LOS EQUIPOS				
EQUIPO (Ref.): Bombas Centrífugas CHL2-20			SIMBOLOGÍA: B-001	
COMPONENTES: rotores, motor, carcaza.				
DIMENSIONAMIENTO				
Geometría	Ancho	Largo	Alto	Peso
	0,165 m	0,5 m	0,215 m	13 kg
Eléctrica		Potencia requerida (kW)	Tensión (V)	Frecuencia (Hz)
		0,37	220	50
Consumo		Agua	Vapor	Aire comprimido
		NA	NA	NA
Configuración del equipo				
				

FICHA DE CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS DE LOS EQUIPOS				
EQUIPO (Ref.): Tanque de almacenamiento (200 L)			SIMBOLOGÍA: TH-001	
COMPONENTES: tanque de almacenamiento				
DIMENSIONAMIENTO				
Geometría	Ancho	Largo	Alto	Peso
	0,6 m	0,6 m	0,65 m	90 kg
Eléctrica		Potencia requerida (kW)	Tensión (V)	Frecuencia (Hz)
		1,2	220	NA
Consumo		Agua	Vapor	Aire comprimido
		NA	NA	NA
Configuración del equipo				
				

FICHA DE CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS DE LOS EQUIPOS				
EQUIPO (Ref.): Tanque para cocción (200 L)			SIMBOLOGÍA: TC-001	
COMPONENTES: tanque de almacenamiento, chaqueta de calentamiento, agitador				
DIMENSIONAMIENTO				
Geometría	Ancho	Largo	Alto	Peso
	0,8 m	0,75 m	0,8 m	100 kg
Eléctrica		Potencia requerida (Kw)	Tensión (V)	Frecuencia (Hz)
		0,75	220	NA
Consumo		Agua	Vapor	Aire comprimido
		NA	1000 – 5000 L	NA
Configuración del equipo				
				

FICHA DE CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS DE LOS EQUIPOS				
EQUIPO (Ref.): Tanque de almacenamiento (300 L)			SIMBOLOGÍA: TA-001	
COMPONENTES: tanque de almacenamiento				
DIMENSIONAMIENTO				
Geometría	Ancho	Largo	Alto	Peso
	0,75 m	0,75 m	0,65 m	150 kg
Eléctrica		Potencia requerida (Kw)	Tensión (V)	Frecuencia (Hz)
		2	220	NA
Consumo		Agua	Vapor	Aire comprimido
		NA	NA	NA
Configuración del equipo				
				

FICHA DE CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS DE LOS EQUIPOS				
EQUIPO (Ref.): Equipo de microfiltración			SIMBOLOGÍA: EM-001	
COMPONENTES: carcaza, membrana de microfiltración				
DIMENSIONAMIENTO				
Geometría	Ancho	Largo	Alto	Peso
	0,8 m	1,5 m	0,75 m	800 kg
Eléctrica		Potencia requerida (Kw)	Tensión (V)	Frecuencia (Hz)
		0,40	240	60
Consumo		Agua	Vapor	Aire comprimido
		NA	NA	NA
Configuración del equipo				
				

FICHA DE CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS DE LOS EQUIPOS				
EQUIPO (Ref.): Equipo de ósmosis inversa			SIMBOLOGÍA: RO-001	
COMPONENTES: membrana semipermeable, bombas				
DIMENSIONAMIENTO				
Geometría	Ancho	Largo	Alto	Peso
	1,2 m	1,8 m	0,85 m	1000 kg
Eléctrica		Potencia requerida (Kw)	Tensión (V)	Frecuencia (Hz)
		0,70	220	70
Consumo		Agua	Vapor	Aire comprimido
		NA	NA	NA
Configuración del equipo				
				

FICHA DE CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS DE LOS EQUIPOS				
EQUIPO (Ref.): Equipo de mezclado (600 L)			SIMBOLOGÍA: TM-001	
COMPONENTES: bomba y paletas				
DIMENSIONAMIENTO				
Geometría	Ancho	Largo	Alto	Peso
	1,2 m	1,7 m	1,1 m	300 kg
Eléctrica		Potencia requerida (Kw)	Tensión (V)	Frecuencia (Hz)
		0,75	220	50
Consumo		Agua	Vapor	Aire comprimido
		NA	NA	NA
Configuración del equipo				
				

FICHA DE CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS DE LOS EQUIPOS				
EQUIPO (Ref.): Equipo de filtrado al vacío industrial			SIMBOLOGÍA: EF-001	
COMPONENTES: tanque de almacenamiento, tela de filtración				
DIMENSIONAMIENTO				
Geometría	Ancho	Largo	Alto	Peso
	1,8 m	2,5 m	1,3 m	1000 kg
Eléctrica		Potencia requerida (kW)	Tensión (V)	Frecuencia (Hz)
		2,2	220	55
Consumo		Agua	Vapor	Aire comprimido
		NA	NA	NA
Configuración del equipo				
				

FICHA DE CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS DE LOS EQUIPOS				
EQUIPO (Ref.): Equipo de evaporado al vacío industrial			SIMBOLOGÍA: EE-001	
COMPONENTES: bomba				
DIMENSIONAMIENTO				
Geometría	Ancho	Largo	Alto	Peso
	1,3 m	1,3 m	0,9 m	200 kg
Eléctrica		Potencia requerida (kW)	Tensión (V)	Frecuencia (Hz)
		5,15	180	60
Consumo		Agua	Vapor	Aire comprimido
		NA	NA	NA
Configuración del equipo				
				

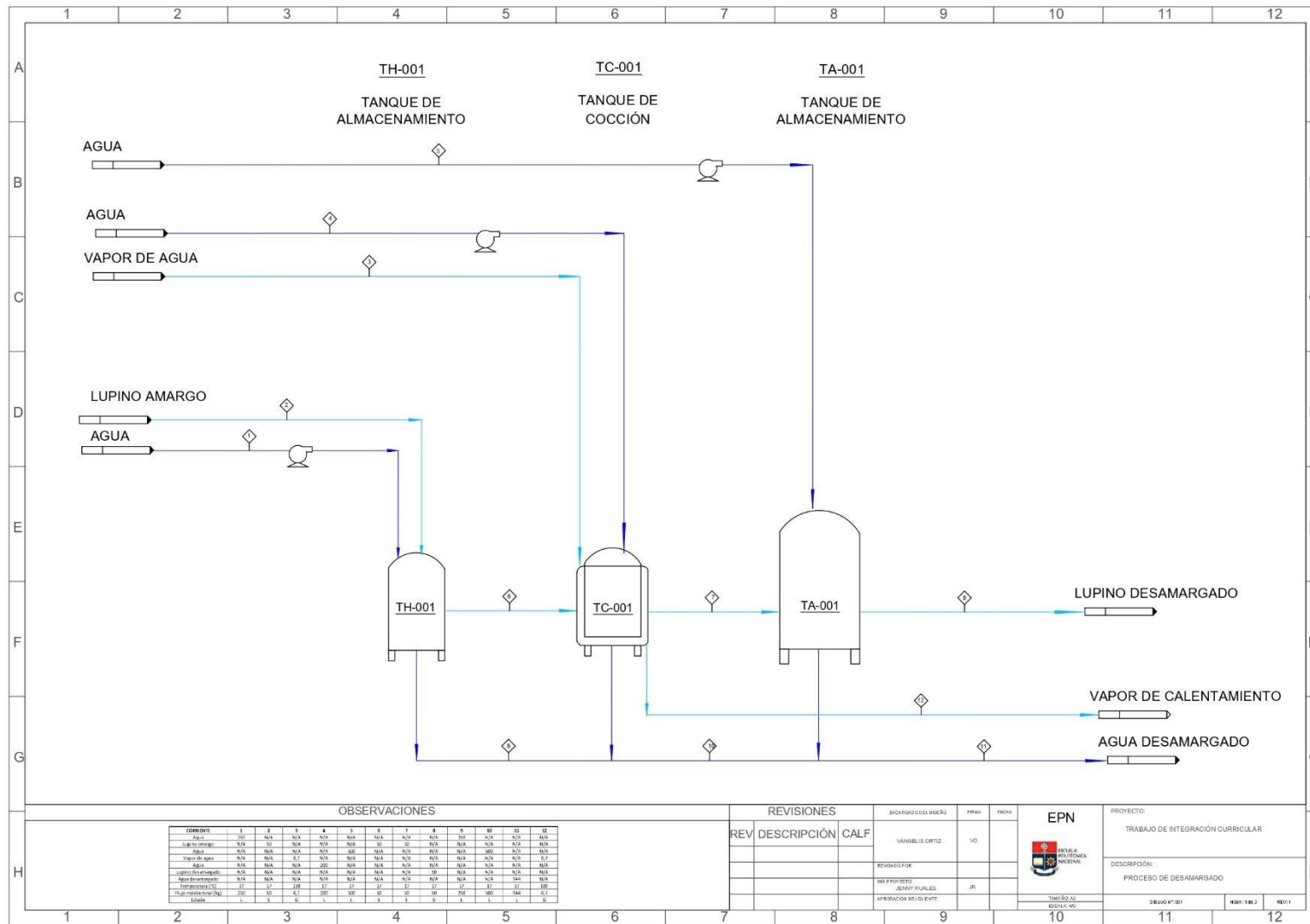


Figura A1. Elaboración de PFD del proceso de desamargado del lupino

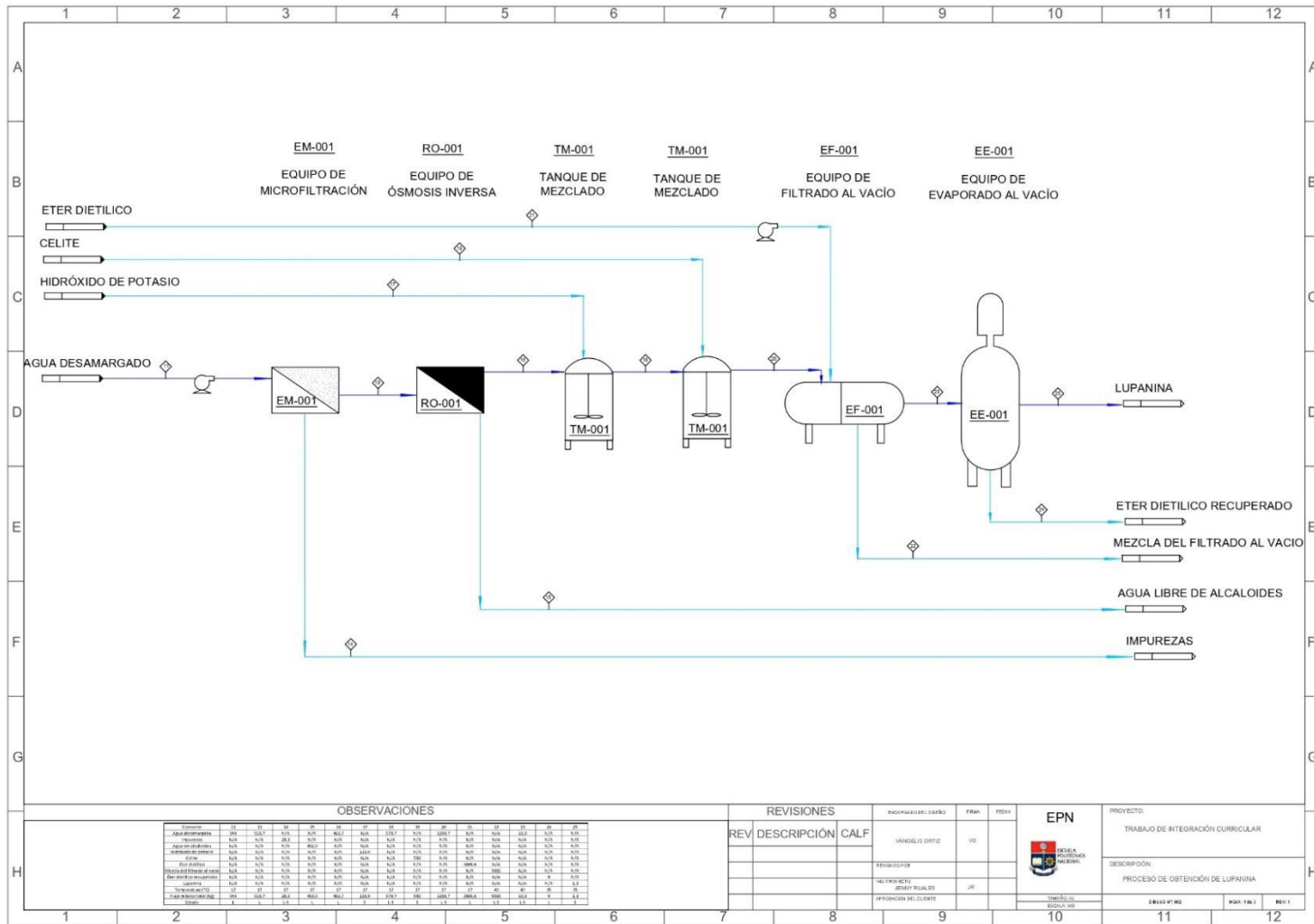


Figura A2. Elaboración de PFD de la obtención de lupanina