



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES
INGENIERÍA EN MEDIO AMBIENTE
PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Título:

**“EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE PRECIPITACIÓN DE LOS
ALCALOIDES PROCEDENTES DEL *Lupinus mutabilis Sweet* POR EL MÉTODO
DE MAYER EN LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI CAMPUS
SALACHE PERÍODO 2021 - 2022”**

Proyecto de Investigación presentado previo a la obtención del Título de Ingeniera en
Medio Ambiente

Autora:
Bastidas Tello María Ximena

Tutora:
Parra Gallardo Giovana Paulina Ing.Mg.

LATACUNGA – ECUADOR

MARZO-2022

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

María Ximena Bastidas Tello, con cédula de ciudadanía No. 0504520081; declaro ser la autora del presente proyecto de investigación “Evaluación de la eficiencia de precipitación de los alcaloides procedentes del *lupinus mutabilis sweet* por el método de Mayer en la Universidad Técnica de Cotopaxi Campus Salache Periodo 2021 - 2022”, siendo la Ing. Mg. Giovana Paulina Parra Gallardo tutora del presente trabajo; y, eximo expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Además, certificamos que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de nuestra exclusiva responsabilidad.

Latacunga, 21 de marzo del 2022

María Ximena Bastidas Tello

Estudiante

CC: 0504520081

Ing. Mg. Giovana Paulina Parra Gallardo

Docente Tutor

CC: 1802267037

CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte **BASTIDAS TELLO MARÍA XIMENA**, identificada con cédula de ciudadanía **0504520081** de estado civil soltera, a quien en lo sucesivo se denominará **LA CEDENTE**; y, de otra parte, el Ingeniero Ph.D. Cristian Fabricio Tinajero Jiménez, en calidad de Rector Encargado, y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez, Barrio El Ejido, Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA. - **LA CEDENTE** es una persona natural estudiante de la carrera de Ingeniería en Medio Ambiente, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado “Evaluación de la eficiencia de precipitación de los alcaloides procedentes del *Lupinus mutabilis Sweet* por el método de Mayer en la Universidad Técnica de Cotopaxi campus Salache período 2021 - 2022”, la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad; y, las características que a continuación se detallan:

Historial Académico

Inicio de la carrera: Octubre 2016- Marzo 2017

Finalización de la carrera: Octubre 2021-Marzo 2022

Aprobación en Consejo Directivo: 7 de Enero del 2022

Tutora: Ing. Mg. Giovana Paulina Parra Gallardo

Tema: “Evaluación de la eficiencia de precipitación de los alcaloides procedentes del *Lupinus mutabilis Sweet* por el método de Mayer en la Universidad Técnica de Cotopaxi campus Salache Período 2021 - 2022”

CLÁUSULA SEGUNDA. - **LA CESIONARIA** es una persona jurídica de derecho público creada por ley, cuya actividad principal está encaminada a la educación superior formando profesionales de tercer y cuarto nivel normada por la legislación ecuatoriana la misma que establece como requisito obligatorio para publicación de trabajos de investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

CLÁUSULA TERCERA. - Por el presente contrato, **LA CEDENTE** autoriza a **LA CESIONARIA** a explotar el trabajo de grado en forma exclusiva dentro del territorio de la República del Ecuador.

CLÁUSULA CUARTA. - **OBJETO DEL CONTRATO:** Por el presente contrato **LA CEDENTE**, transfiere definitivamente a **LA CESIONARIA** y en forma exclusiva los siguientes derechos patrimoniales; pudiendo a partir de la firma del contrato, realizar, autorizar o prohibir:

- a) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.
- b) La publicación del trabajo de grado.

- c) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.
- d) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.
- e) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

CLÁUSULA QUINTA. - El presente contrato se lo realiza a título gratuito por lo que **LA CESIONARIA** no se halla obligada a reconocer pago alguno en igual sentido **LA CEDENTE** declara que no existe obligación pendiente a su favor.

CLÁUSULA SEXTA. - El presente contrato tendrá una duración indefinida, contados a partir de la firma del presente instrumento por ambas partes.

CLÁUSULA SÉPTIMA. - CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD. - Por medio del presente contrato, se cede en favor de **LA CESIONARIA** el derecho a explotar la obra en forma exclusiva, dentro del marco establecido en la cláusula cuarta, lo que implica que ninguna otra persona incluyendo **LA CEDENTE** podrá utilizarla.

CLÁUSULA OCTAVA. - LICENCIA A FAVOR DE TERCEROS. - LA CESIONARIA podrá licenciar la investigación a terceras personas siempre que cuente con el consentimiento de **LA CEDENTE** en forma escrita.

CLÁUSULA NOVENA. - El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en la cláusula cuarta, constituirá causal de resolución del presente contrato. En consecuencia, la resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

CLÁUSULA DÉCIMA. - En todo lo no previsto por las partes en el presente contrato, ambas se someten a lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, Código Civil y demás del sistema jurídico que resulten aplicables.

CLÁUSULA UNDÉCIMA. - Las controversias que pudieran suscitarse en torno al presente contrato, serán sometidas a mediación, mediante el Centro de Mediación del Consejo de la Judicatura en la ciudad de Latacunga. La resolución adoptada será definitiva e inapelable, así como de obligatorio cumplimiento y ejecución para las partes y, en su caso, para la sociedad. El costo de tasas judiciales por tal concepto será cubierto por parte del estudiante que lo solicitare.

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga, a los 11 días del mes de agosto del 2021.

María Ximena Bastidas Tello

LA CEDENTE

Ing. Ph.D. Cristian Tinajero Jiménez

LA CESIONARIA

AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tutor del Proyecto de Investigación con el título:

“EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE PRECIPITACIÓN DE LOS ALCALOIDES PROCEDENTES DEL *Lupinus mutabilis Sweet* POR EL MÉTODO DE MAYER EN LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI CAMPUS SALACHE PERÍODO 2021 - 2022”, de Bastidas Tello María Ximena, de la carrera de Ingeniería en Medio Ambiente, considero que el presente trabajo investigativo es merecedor del Aval de aprobación al cumplir las normas, técnicas y formatos previstos, así como también han incorporado las observaciones y recomendaciones propuestas en la Pre defensa.

Latacunga, 21 de marzo del 2022

Ing. Mg. Giovana Paulina Parra Gallardo

DOCENTE TUTOR

CC: 1802267037

AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tribunal de Lectores, aprobamos el presente Informe de Investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi; y, por la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales; por cuanto, la postulante: Bastidas Tello María Ximena , con el título del Proyecto de Investigación: “EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE PRECIPITACIÓN DE LOS ALCALOIDES PROCEDENTES DEL *Lupinus mutabilis Sweet* POR EL MÉTODO DE MAYER EN LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI CAMPUS SALACHE PERÍODO 2021 - 2022”, ha considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de sustentación del trabajo de titulación.

Por lo antes expuesto, se autoriza realizar los empastados correspondientes, según la normativa institucional.

Latacunga, 21 de marzo del 2022

Lector 1 (Presidente)

Ing. MSc. Joseline Luisa Ruiz Depablos
CC: 1758739062

Lector 2

Ing. Ph.D. Eliana Boada Cahueñas
CC: 1719312892

Lector 3

Ing. Mg. José Luis Agreda Oña
CC: 0401332101

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por brindarme la vida y la salud, para guiarme a lo largo de mi vida de existencia, por ser el apoyo y fortaleza en aquellos momentos de dificultad y de agotamiento.

Gracias a mi madre: Mercedes Tello por ser la principal promotora de verme cumpliendo mi sueño, por confiar y creer en mis expectativas, por los valores, consejos y principios que me ha inculcado.

Agradezco a mis docentes de la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, de la Universidad Técnica de Cotopaxi, Por haber compartido sus conocimientos a lo largo de mi preparación académica de manera especial a la Ing. Mg. Giovana Paulina Parra Gallardo tutora de mi proyecto de investigación y a la Ing. M.Sc. Caterine Isabel Donoso Quimbita quienes han guiado con su paciencia y su rectitud como docente.

Bastidas Ximena

DEDICATORIA

El presente proyecto de investigación lo dedico a Dios, por ser el inspirador y darme fuerzas para continuar en este proceso de obtener uno de los sueños más anhelados.

A mi madre, por su amor, trabajo y sacrificio en todos los años, gracias a usted he logrado llegar hasta donde estoy ahora y convertirme en lo que soy. Ha sido el mayor orgullo y privilegio de ser su hija.

A mis hermanos y abuelitos por estar siempre presentes, acompañándome y por el apoyo moral, que me brindaron a lo largo de esta etapa de mi vida.

A todas las personas que me brindaron el apoyo y que han hecho que el trabajo se realice con éxito, en especial a aquellos que me abrieron las puertas y compartieron sus conocimientos.

Bastidas Ximena

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

TÍTULO: “EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE PRECIPITACIÓN DE LOS ALCALOIDES PROCEDENTES DEL *Lupinus mutabilis Sweet* POR EL MÉTODO DE MAYER EN LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI CAMPUS SALACHE PERÍODO 2021 - 2022”

AUTORA: Bastidas Tello María Ximena

RESUMEN

El *Lupinus mutabilis Sweet* es una leguminosa con gran potencial nutricional, productivo, farmacológico, sin embargo, las bondades benéficas nutricionales que ofrece el chocho se limitan en su uso directo para humanos y animales por sustancias como los alcaloides, otorgando a la semilla el sabor amargo y carácter tóxico. El proceso de desamargado tradicional, se desarrolla comúnmente en acequias o ríos que posiblemente provoquen alteración hídrica, contaminación ambiental y desaprovechamiento de estos efluentes residuales, ricos en alcaloides. Objetivo evaluar la eficiencia de precipitación de los alcaloides del *L. mutabilis Sweet* en el agua de desamargado, mediante el método de Mayer. A continuación, se utilizó un diseño experimental multifactorial con tres factores y tres niveles. Los resultados de la detección cualitativa de alcaloides (reactivo de Mayer) fijaron la presencia abundante (+++) en las 27 unidades experimentales. Luego, la cuantificación de quinolizidinas, estableció un precipitado máximo de 87,60% en dos tratamientos (T1-120rpm-XXX, T2-120rpm-XXX) y una mínima de 80,16% para T1-90-XV, resaltando la influencia del agitador a 120 rpm durante un período de 30 minutos. Estos resultados contrastados con las significancias estadísticas (nivel de confianza 95%) para los factores A, B y C, permitieron determinar una elevada eficiencia al precipitar alcaloides en un rango mayor al 70%. Además, se establecieron las condiciones adecuadas para una mayor eficiencia de precipitación, que consisten en la aplicación de 0,7 mL, 30 minutos y 120 revoluciones por minuto (RPM), para los factores de concentración de reactivo de mayer, tiempo de agitación y velocidad de agitación, respectivamente. Finalmente, existió una influencia directa de los factores tiempo y velocidad de agitación sobre la precipitación de alcaloides.

Palabras clave: *Lupinus mutabilis Sweet*, alcaloides, desamargado, eficiencia, método de Mayer, concentración de reactivo de Mayer, tiempo de agitación, velocidad de agitación.

TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI
AGRICULTURAL AND NATURAL RESOURCES FACULTY

TITLE: “EVALUATION OF THE PRECIPITATION EFFICIENCY OF ALKALOIDS FROM *Lupinus mutabilis Sweet* BY MAYER'S METHOD AT THE UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI CAMPUS SALACHE PERIOD 2021 – 2022”

AUTHOR: Bastidas Tello María Ximena

ABSTRACT

Lupinus mutabilis Sweet is a legume with great nutritional, productive and pharmacological potential; however, the beneficial nutritional benefits that lupin seeds offers are limited in its direct use for humans and animals by substances such as alkaloids, which give the seed a bitter taste and toxic character. The traditional debittering process is commonly carried out in irrigation ditches or rivers, contributing to water degradation, environmental pollution and waste of these residual effluents, rich in alkaloids. Therefore, the precipitation efficiency of alkaloids from *Lupinus mutabilis Sweet* in the dewatering water was evaluated using Mayer's method. Then, a multifactorial experimental design with three factors and three levels was executed. Then, the quantification of quinolizidines established a maximum precipitate of 87.60% in two treatments (T1-120rpm-XXX, T2-120rp-XXX) and a minimum of 80.16% for T1-90-XV, highlighting the influence of the shaker at 120 rpm during a period of 30 minutes. These results, contrasted with the statistical significance (95% confidence level) for treatments A, B and C, made it possible to determine a high efficiency in removing alkaloids in a range greater than 70%. In addition, the appropriate conditions for a higher precipitation efficiency were established, consisting of the application of 0.7 mL, 30 minutes and 120 revolutions per minute (rpm), for the factors of mayer's reagent concentration, agitation time and agitation speed, respectively. Finally, there was a direct influence of the factors time and stirring speed on alkaloid precipitation.

Keywords: *Lupinus mutabilis Sweet*, alkaloids, debittering, efficiency, Mayer's method, mayer's reagent concentration, stirring time, stirring speed. *Lupinus mutabilis Sweet* is a legume with great nutritional, productive and pharmacological potential. However, the beneficial nutritional benefits that lupin seeds offer are limited in their direct use for humans and animals by substances such as alkaloids, giving the seed a bitter taste and toxic character. The traditional debittering process is commonly carried out in irrigation ditches or rivers, contributing to water degradation, environmental pollution, and wastage of these residual effluents, which are rich in alkaloids. Therefore, the precipitation efficiency of the alkaloids from *Lupinus mutabilis Sweet* in the debittering water was evaluated using Mayer's method. A multifactorial experimental design with three factors and three levels was executed. Then, the quantification of quinolizidines, established a maximum precipitate of 87.60% in two treatments (T1120III, T2120III) and a minimum of 80.16% for T190II, highlighting the influence of the shaker at 120 rpm during a period of 30 minutes. These results, contrasted with the statistical significance (95% confidence level) for treatments A, B, and C, made it possible to determine a high efficiency in removing alkaloids in a range greater than 70%. In addition, suitable conditions for higher precipitation efficiency were established, consisting of 0.7 mL, 30 minutes, and 120 revolutions per minute (rpm), for the factors Mayer's reagent concentration, stirring time, and stirring speed, respectively. Finally, there was a direct influence of the factors time and stirring speed on alkaloid extraction.

Keywords: *Lupinus mutabilis Sweet*, alkaloids, debittering, efficiency, Mayer's method, Mayer's reagent concentration, stirring time, stirring speed.

ÍNDICE GENERAL

DECLARACIÓN DE AUTORÍA	ii
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR.....	iii
AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	v
AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	vi
AGRADECIMIENTO.....	vii
DEDICATORIA	viii
RESUMEN.....	ix
ABSTRACT	x
ÍNDICE DE FIGURAS	xiv
ÍNDICE DE TABLAS.....	xiv
1. INFORMACIÓN GENERAL.....	1
2. INTRODUCCIÓN	2
3. JUSTIFICACIÓN	4
4. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO	5
4.1. BENEFICIARIOS DIRECTOS.....	5
4.2. BENEFICIARIOS INDIRECTOS.....	5
5. PROBLEMÁTICA	6
5.1. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	7
5.2. PREGUNTAS DIRECTRICES.....	7
6. OBJETIVOS	8
6.1. Objetivo General:	8
6.2. Objetivos Específicos:	8
7. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS	9
8. CONTEXTUALIZACIÓN	10
MACRO.....	10
MESO	10

MICRO.....	11
9. CARACTERIZACIÓN TEÓRICA.....	13
9.1. El chocho (<i>Lupinus mutabilis sweet</i>)	13
9.2. Taxonomía del <i>Lupinus mutabilis Sweet</i>	13
9.3. Descripción botánica.....	14
9.3.1. Morfología	14
9.3.2. Características de los órganos del chocho	15
9.4. Composición química y valor nutricional.....	16
9.5. Usos y Aplicaciones del chocho	18
9.6. Sustancias antinutricionales del chocho	19
9.7. Métodos de desamargado del <i>L. mutabilis Sweet</i>	20
9.7.1. Proceso de desamargado convencional (manual).....	21
9.7.2. Proceso de desamargado “CUSCO”	21
9.7.3. Proceso de desamargado industrial	21
9.7.4. Proceso de desamargado INIAP	21
9.8. Alcaloides	21
9.8.1. Origen.....	22
9.8.2. Clasificación.....	23
9.8.3. Efectos farmacológicos	23
9.8.4. Alcaloides Quinolizidínicos (AQ).....	24
9.9. Métodos de identificación y extracción de alcaloides quinolizidínicos (AQ)	24
9.10. Información del Reactivo Mayer	25
10. BASE LEGAL.....	27
11. HIPÓTESIS.....	28
12. METODOLOGÍA.....	29
12.1. Área de estudio.....	29
12.1.1. Ubicación	29
12.2. Tipo de investigación.....	29
12.2.1. Investigación descriptiva	29
12.2.2. Investigación Experimental	30
12.3. Método de identificación de alcaloides	30
12.3.1. Aplicación del Reactivo de Mayer.....	30

12.4. Práctica de laboratorio	30
12.4.1. Equipos y materiales	30
12.4.2. Reactivos	31
12.5. Procedimiento	31
12.6. Cálculos:	32
13. DISEÑO EXPERIMENTAL	32
14. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	34
14.1. Usos y Aplicaciones del efluente del <i>Lupinus Mutabilis Sweet</i>	39
14.2. Usos de los alcaloides	40
15. IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES, ECONÓMICOS).....	41
15.1. Impactos Técnicos	41
15.2. Impactos Sociales	41
15.3. Impactos Ambientales.....	41
15.4. Impactos Económicos	41
16. PRESUPUESTO.....	42
17. CONCLUSIONES.....	43
18. RECOMENDACIONES	43
19. BIBLIOGRAFÍA.....	45
20. ANEXOS	56

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Métodos de desamargado de chocho.....	20
Figura 2. Ubicación del laboratorio de la carrera medio ambiente - CAREN	29
Figura 3. Determinación cuantitativa de alcaloides	31
Figura 4. Efectos estandarizados (la respuesta es Porcentaje de alcaloides; $\alpha=0,05$)	37
Figura 5. Efectos principales para Porcentaje de alcaloides (Medias ajustadas).....	38
Figura 6. Interacción para Porcentaje de alcaloides (Medias ajustadas)	39

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Actividades y sistema de tareas en relación a los objetivos planteados	9
Tabla 2. <i>Recopilación de características de la organografía del <i>L. mutabilis Sweet</i></i>	15
Tabla 3. <i>Análisis bromatológico del chocho amargo y desamargado</i>	18
Tabla 4. <i>Usos del <i>Lupinus mutabilis Sweet</i></i>	19
Tabla 5. <i>Orden cronológico de primeros alcaloides aislados</i>	22
Tabla 6. <i>Efectos farmacológicos de los alcaloides sobre el ser humano</i>	23
Tabla 7. <i>Diversos enfoques de extracción</i>	25
Tabla 8. Legislación que aborda la investigación	25
Tabla 9. Arreglo factorial 3^3 - Aplicación de reactivo de Mayer para determinar la eficiencia de precipitación de los alcaloides procedentes del agua de desamargado del chocho	33
Tabla 10. <i>Resultados del análisis según la detección de alcaloides con el método del color Mayer</i>	34
Tabla 11. <i>Porcentaje de alcaloides removidos durante la ejecución del arreglo factorial $3 \times 3 \times 3$</i>	35
Tabla 12. <i>Análisis de Varianza para porcentaje de alcaloides</i>	36
Tabla 13. <i>Presupuesto para el proyecto</i>	42
Tabla 14. <i>Clasificación de los alcaloides</i>	56

1. INFORMACIÓN GENERAL

1.1. Título del Proyecto:

“Evaluación de la eficiencia de precipitación de los alcaloides procedentes del *Lupinus mutabilis Sweet* por el método de Mayer en la Universidad Técnica de Cotopaxi campus Salache Período 2021 - 2022”

1.2. Lugar de la ejecución:

Universidad Técnica de Cotopaxi Campus Salache, Barrio Salache, Parroquia Eloy Alfaro, Cantón Latacunga, Provincia de Cotopaxi, Zona 3.

1.3. Institución y Facultad que Auspicia:

Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales (CAREN).

1.4. Carrera que lo Auspicia:

Carrera de Ingeniería Ambiental.

1.5. Equipo de Investigación:

Tutor de Titulación: Ing.Mg. Giovana Paulina Parra Gallardo

Estudiantes de investigación: Bastidas Tello María Ximena

Lectores:

Lector 1: Ing. MSc. Joseline Luisa Ruíz Depablos

Lector 2: Ing. Eliana Boada Cahueñas

Lector 3: Ing. Mg. José Luis Agreda Oña

1.6. Área de Conocimiento:

Ambiente-Hidrología

1.7. Línea de Investigación:

Análisis, Conservación y aprovechamiento de la Biodiversidad local.

1.8. Sub línea de Investigación de la Carrera

Sostenibilidad Ambiental.

1.9. Línea de Vinculación

Gestión de recursos naturales, biodiversidad, biotecnología y genética, para el desarrollo humano y social.

2. INTRODUCCIÓN

En el Ecuador conocido comúnmente como chocho (*L. mutabilis Sweet*) (Gross et al., 1989), es una leguminosa con gran potencial nutricional, productivo, farmacológico, etc., que se consume desde la época preincaica, siendo domesticada y cultivada por los pobladores andinos, presumiendo que ya hace 4000 años aproximadamente, se aplicaba por primera vez a esta especie un proceso de maceración y lavado, con la finalidad de separar los alcaloides de la semilla para emplearlas como alimento (Hernández & León, 1992; Jacobsen, 2002; Tapia, 2015).

Por otro lado, hay que añadir que el elevado porcentaje de proteínas (42-51 %) y grasas (14-24 %), en la semilla, la coloca como la soya andina (Gross et al., 1989; National Research Council, 1989). También, en contraste con otras leguminosas, el chocho posee una mayor concentración de proteínas con riqueza particular en lisina. Además, la óptima calidad de grasa que presenta este grano, con ácidos grasos esenciales (oleico, linoleico y linolenico), en un porcentaje del 3 al 14 % de la cantidad de grasa total, indican que su consumo podría conllevar a una mejoría de la salud y del estado nutricional de los grupos marginados en el Ecuador (Camarena, 2020; Uauy et al., 2001). Sin embargo, las bondades benéficas nutricionales que ofrece el chocho se limitan en su uso directo para humanos y animales por sustancias como los metabolitos secundarios. Estos metabolitos secundarios, son los alcaloides quinolizidínicos, que conceden a la semilla el sabor amargo y carácter tóxico (Caiza, 2011; Schoeneberger et al., 1982).

Por consiguiente, se deben extraer estos alcaloides que sirven como subproducto desde el punto de vista químico, bioquímico y fisiológico, principalmente con potenciales aplicaciones farmacológicas en afecciones cardíacas y para el medio ambiente (Aviles & Flores, 2017; Gutiérrez, Infantes, & Cruces, 2016). Este proceso de extracción de quinolizidinas para el desamargado, se lleva a cabo de forma tradicional en varios días de tratamiento, abarcando 3 etapas (hidratación, cocción y lavado), las mismas que se desarrollan en acequias o ríos aportando a la degradación hídrica, contaminación ambiental y desaprovechamiento de estos efluentes residuales (Gross et al., 1989; Tapia, 1997).

Finalmente, para evaluar el contenido de los alcaloides quinolizidínicos en el agua desamargada del chocho, se recurrió al análisis de la eficiencia del precipitado de sales mediante un disolvente hidrófilo como el reactivo de Mayer. Para ello, se ejecutó un diseño experimental: Diseño de Bloques Completamente al Azar Multifactorial de tres factores y tres niveles: Factor

1 (Relación contenido de alcaloides vs Volumen de reactivo de Mayer, con sus tres niveles: 0,5; 0,7; 1,0 mL); Factor 2 (Velocidad de agitación con sus tres niveles: 60, 90 y 120 rpm); Factor 3 (Tiempo de contacto con sus tres niveles: 10; 15 y 30 minutos).

3. JUSTIFICACIÓN

Desde hace unas décadas, el *Lupinus mutabilis Sweet*, de origen andino ha tomado mucha relevancia en el aspecto alimenticio y productivo en Ecuador. Las proteínas y las grasas contenidas en la semilla de la leguminosa la vuelven muy cotizada en las industrias por su alto contenido nutricional. Sin embargo, posee ciertas sustancias anti nutricionales, entre ellas los alcaloides, que dificultan su ingesta en humanos y animales debido a su sabor amargo y por su toxicidad (Guerrero, 1987; Villacrés et al., 2009). Estos elementos no nutritivos carecen de un valor beneficioso para nuestra salud y alimentación, pero al ser sustancias naturales con características diversas pueden aportar a la evolución de áreas como la farmacológica, agroindustrial y medicinal (Mazza, 2000).

No obstante, se han realizado varias investigaciones para separar los alcaloides del efluente de desamargado del chocho, por ejemplo, Fernández (2017), aplicando el método de Von Baer, determinó por volumetría los alcaloides presentes en el chocho y de forma cuantitativa en muestras de agua residual mediante los reactivos de Mayer, Dragendorff y Wagner. Estos reactivos se aplicaron, en primera instancia, mediante pruebas rápidas para el reconocimiento de la presencia de alcaloides. Se detectan por el color del precipitado naranja, marrón y blanco para Dragendorff, Wagner y Mayer respectivamente, determinando con base a la reducción de la concentración de anti nutrientes el tratamiento de desamargado como el proceso más directo para eliminar los anti nutrientes y, el proceso de fermentado maximizó la reducción de estas sustancias. Existió una disminución de estos compuestos en el proceso de desamargado en el orden de nitratos 93,98%, taninos 80,69%, alcaloides 91,96%, actividad ureasa 89,24%, ácido fítico en 55,45% e inhibidores de tripsina en un 71,73%. También, los autores Huamán & Choccare (2017), realizaron un análisis de alcaloides en agua residual tratada mediante resinas de intercambio iónico, a través de dos métodos: “cualitativo, utilizando reactivos de precipitación de alcaloides como: Dragendorff, Wagner y Mayer, sin obtener precipitado alguno en los diferentes casos. El segundo método fue por espectrofotometría FT IR, compararon los espectros del agua tratada y de una solución patrón de lupanina, los resultados fueron diferentes espectros. Concluyendo que las resinas catiónicas eliminan los alcaloides del agua residual”.

Asimismo, la actual investigación evaluó la eficiencia de remoción de alcaloides empleando un método cuantitativo de identificación y análisis como es el reactivo de Mayer, posteriormente se cuantificó el precipitado obtenido. De esta manera, se aportó a la disminución del uso indiscriminado del agua y su vertimiento directo sin previo tratamiento hacia cuerpos de agua.

4. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO

4.1. BENEFICIARIOS DIRECTOS

Esta investigación contribuyó al conocimiento de los productores de *L. mutabilis Sweet*, ubicados en las provincias de la Sierra centro como son: Chimborazo, Cotopaxi, Tungurahua, Pichincha. Además, influye en el ámbito académico, al emplearse una metodología práctica para evaluar la eficiencia de la extracción y/o precipitación de alcaloides quinolizidínicos y optimización del recurso hídrico, convirtiéndose en una herramienta de formación y aprendizaje para los estudiantes universitarios.

4.2. BENEFICIARIOS INDIRECTOS

Los comerciantes que reciben el producto para su venta y/o utilización en procesos industriales, obtendrán con la aplicación de metodologías y tecnologías innovadoras, niveles altos en la calidad de la leguminosa satisfaciendo las exigencias de los consumidores finales.

5. PROBLEMÁTICA

El chocho es un alimento andino importante por su alto potencial nutritivo pero para su ingesta se requiere de un proceso previo de desamargado para eliminar metabolitos secundarios (alcaloides quinolizidínicos) que perjudican a la salud humana (Tapia, 2015). Este proceso líquido que elimina el carácter tóxico y sabor amargo del grano seco, proveniente de los alcaloides, consume alrededor de 63 kg de agua por cada kilogramo de grano creando grandes pérdidas de sólidos (0,27 kg/materia seca) (Gutiérrez et al., 2016).

Por lo antes expuesto, el problema radica en el uso excesivo de agua durante el proceso de desamargado para la remoción de estas sustancias anti nutricionales, esto se debe, a la aplicación de tres etapas que consisten en hidratación, cocción y lavado. Como indica Suquilanda (s. f.) En el manual técnico “Producción orgánica de cultivos andinos”, el desarrollo del proceso de desamargado por parte de los agricultores de forma convencional se realiza hirviendo alrededor de 45-60 minutos, posteriormente colocando al grano en costales dentro de las acequias o ríos por períodos de una semana. Esto es contrastado por Villacrés et al., (2009) que manifiestan que para este proceso artesanal se llevan a cabo 3 fases (hidratación, cocción y lavado), resaltando que tanto la hidratación como el lavado se desarrollan en agua corriente de acequias y/o vertientes con un uso escaso de agua potable. Este proceso transcurre en un período de cinco a siete días.

También, los autores Jarrín et al., (2003) en una investigación realizada para el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) indicaron que el agua desamargada de chocho con base en su caracterización física – química no es apta para el consumo humano y regadío permanente de cultivos debido a su pH ligeramente ácido, elevada dureza, contenido de bicarbonatos, cloruros, y un valor de 3.17 para la relación DQO/DBO₅, cuya acumulación progresiva podría tener efectos tóxicos y dañinos sobre la salud humana y el suelo. Asimismo, el consumo del agua desamargada en seres humanos provoca intoxicación debido a la toxicidad de los alcaloides (lupina, esparteína e hidroxolupanina) mostrando síntomas similares a los efectos antimuscarínicos producidos por la atropina (Camacho & Uribe, 1995). A pesar de no ser explícitos los efectos farmacológicos de los alcaloides quinolizidínicos en seres humanos, estos son causantes de afecciones al sistema nervioso y posibles trastornos como náuseas, malestar, midriasis, parálisis respiratorias, además, otros trastornos visuales, ataxia, diaforesis, estado de debilidad progresiva y coma (Cheeke, 1989; Schoeneberger et al., 1982).

5.1. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Se determinaron las condiciones de precipitación más adecuadas para una recuperación superior al 70% de los alcaloides provenientes del proceso de desamargado de *L. mutabilis Sweet*?

5.2. PREGUNTAS DIRECTRICES

- ¿Es factible evaluar la eficiencia de precipitación de alcaloides presentes en los efluentes del proceso de desamargado del chocho mediante el método Mayer?
- ¿Cuál es el porcentaje de alcaloides extraídos por el método Mayer?
- ¿Cuál es el impacto ambiental del efluente de desamargado vertido en las fuentes de agua sin previo tratamiento?

6. OBJETIVOS

6.1. Objetivo General:

Evaluar la eficiencia de precipitación de los alcaloides presentes en los efluentes del proceso de desamargado del *Lupinus mutabilis Sweet* por el método Mayer.

6.2. Objetivos Específicos:

- Ejecutar el diseño experimental para la precipitación de los alcaloides presentes en las muestras de agua provenientes del proceso del desamargado de *Lupinus mutabilis Sweet* mediante el método Mayer.
- Determinar las condiciones de precipitación más adecuadas para una recuperación superior al 70% de los alcaloides provenientes del proceso de desamargado de *Lupinus mutabilis Sweet*.
- Describir las potenciales aplicaciones del agua de desamargado del *Lupinus mutabilis Sweet* para la reutilización del efluente.

7. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS

Tabla 1

Actividades y sistema de tareas en relación a los objetivos planteados.

N°	Objetivos	Actividades	Indicador	Medio de Verificación	Resultados
1	Ejecutar el diseño experimental para la precipitación de los alcaloides presentes en las muestras de agua provenientes del proceso del desamargado de <i>Lupinus mutabilis Sweet</i> mediante el método Mayer.	Aplicación en laboratorio del diseño experimental propuesto para la investigación.	Registro de cuantificación de alcaloides para los tratamientos.	Hojas de cálculo y utilización de Software Minitab 20	Obtención de valores de alcaloides para las 27 unidades experimentales del arreglo multifactorial 3x3
2	Determinar las condiciones de precipitación más adecuadas para una recuperación superior al 70% de los alcaloides provenientes del proceso de desamargado de <i>Lupinus mutabilis Sweet</i> .	Desarrollo de método de precipitación y de titulación en 27 unidades experimentales.	Registro y análisis de cuantificación de alcaloides para los tratamientos.	Hojas de cálculo y utilización de Software Minitab 20.	Valoración cuantitativa del porcentaje removido de alcaloides para análisis de la eficiencia de precipitación con el método Mayer.
3	Describir las potenciales aplicaciones del agua de desamargado del <i>Lupinus mutabilis Sweet</i> para la reutilización del efluente.	Revisión bibliográfica de las potenciales aplicaciones de alcaloides provenientes del desamargado de chocho.	Recopilación bibliográfica de fuentes de alto impacto de la comunidad científica.	Revisión de tesis, artículos científicos, libros, etc., en donde se analizó las diferentes aplicaciones del efluente.	Análisis de alternativas viables para la reutilización de alcaloides, y minimizar el impacto ambiental que produce su vertimiento directo a cuerpos de agua.

8. CONTEXTUALIZACIÓN

MACRO

Lupinus mutabilis Sweet, a nivel mundial, tiene la atención de investigadores de distinta índole como botánicos, agrónomos, nutricionistas, agroindustriales y antropólogos, organizándose alrededor de 10 congresos. Además, el enorme interés por el género lupinus ha fomentado la creación de la Asociación Internacional de Investigadores del Lupinus con más de 20 años de antigüedad (Tapia, 2015).

En añadidura, la importancia de este grano radica en que se puede emplear de diferentes maneras gastronómicas, debido a su alto valor nutricional, especialmente el contenido de proteínas y aceites. Sin embargo, para el consumo directo se presentan ciertas sustancias antinutricionales, como los alcaloides, que al ingerirlos en una dosis alta, pueden causar intoxicación en humanos y animales por su toxicidad; no obstante, estos se pueden aprovechar en áreas como la agricultura empleándose para defensa ante el ataque de insectos, herbívoros y microorganismos (Ganzera et al., 2010; Resta et al., 2008).

Por consiguiente, los países industrializados están invirtiendo grandes cantidades de recursos económicos en promover la investigación de plantas y animales de los países en desarrollo, para la obtención de nuevos principios activos (alcaloides). Asimismo, las aguas residuales del desamargado de chocho se han aplicado dentro de investigaciones para el control de plagas, ectoparásitos y parásitos intestinales de los animales (Rodríguez, 2009).

MESO

La producción del chocho contempla varios sistemas, desde Ecuador hasta Chile y el noreste de Argentina, convirtiéndose en la única leguminosa comestible que se origina en los Andes. Con un enfoque agronómico, el chocho es muy eficiente para la fijación del nitrógeno atmosférico, este se cultiva desde los 2800 hasta 3600 msnm. El *L. mutabilis Sweet* posee una tolerancia a suelos deficientes, bajas temperaturas y sequías, además, es de fácil adaptación (Tapia, 1997).

Por ende, a escala regional como es habitual su procesamiento y consumo, se han llevado a cabo múltiples investigaciones acerca de la extracción y/o precipitación de alcaloides para retirar el sabor amargo y carácter tóxico que estos le confieren al grano. Por citar algunas tenemos la “Extracción de alcaloides presentes en las semillas de *Lupinus mutabilis* y su actividad antibacteriana” de Martínez & Acosta, (2020) en Colombia; la “Evaluación de la extracción de alcaloides de la semilla de tarwi (*Lupinus mutabilis*), por microondas, ultrasonido

y convencional” de Seguil et al., (2019) y “Evaluación del efecto insecticida de las aguas residuales de tarwi (*Lupinus mutabilis*) sobre larvas de *Spodoptera eridania* (Lep.: Noctuidae) bajo condiciones de laboratorio” de Gutiérrez et al., (2016) en el vecino país Perú; “Desarrollo del proceso común de desamargado de *Lupinus mutabilis* (tarwi) en condiciones controladas físicas y químicas” de Espejo, (2017) en Bolivia. Esto demuestra el interés de la región por descubrir nuevos métodos o tecnologías que permitan el fácil consumo de este grano y potenciar el uso de los alcaloides obtenidos del mismo en áreas como la farmacéutica, agricultura, etc.

MICRO

A escala local, el *L. mutabilis Sweet* comprende una gran producción en el Ecuador, debido a las características climáticas del mismo. Las unidades de producción agropecuaria (UPAs) anotadas en el censo del 2000, fueron 9596, con una superficie sembrada de 5974 hectáreas y una superficie cosechada de 3921 hectáreas. Además, el 15 % de procesadores de Cotopaxi venden el producto a intermediarios de la misma provincia y Pichincha en baldes de 4, 12 y 20 litros. En la provincia de Chimborazo el 90% venden el grano a intermediarios que comercializan en toda la provincia y en algunas ciudades de la costa. En Tungurahua, los procesadores venden el 50% a intermediarios y la otra mitad directo al consumidor en mercados de la ciudad. En Imbabura el 90% de los procesadores se ubican en el cantón Otavalo (Caicedo & Peralta, 2000).

Por lo ya mencionado anteriormente, referente al desarrollo y comercialización de este producto en nuestro país, las universidades y otros entes investigativos gubernamentales como el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) han desarrollado una gran cantidad de investigaciones que abarcan desde su caracterización físico-química, identificación y extracción de alcaloides hasta su aplicación y comercialización. Como ejemplos de estas investigaciones tenemos las siguientes: “Caracterización fisiológica y física del recubrimiento órgano-mineral de la semilla de chocho (*lupinus mutabilis sweet*) utilizando tres tipos de polímeros” de Quishpe, (2020), “Evaluación del Método de extracción de Alcaloides de las hojas del Chocho (*lupinus mutabilis sweet*) y su implementación para la elaboración de un gel antibacteriano de uso Aséptico” de Huertas & Sandoval, (2018), “Estado del arte de la caracterización de efluentes residuales del proceso de desamargado del *Lupinus mutabilis Sweet* y su propuesta metodológica” de Llamba & López, (2020), “Estudio bibliográfico de tres tipos de desamargado (tradicional, fermentación y germinación) en diferentes índices de madurez de Chocho (*lupinus mutabilis sweet*) en dos variedades (andino iniap 450 y guaranguito iniap 451) para determinar su eficacia” de Quitio & Solórzano, (2020) en Cotopaxi;

“Determinación del contenido de antinutrientes en tres variedades de chocho (Andino INIAP 450, Guaranguito INIAP 451 y Criollo)” de Fernández, (2017), “Obtención de hidrolizado enzimático de proteína de chocho (*Lupinus mutabilis*) a partir de harina integral” de Acuña & Caiza, (2010) en Pichincha; “Caracterización bromatológica y fitoquímica de los granos y hojas del chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet), Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd), Amaranto (*Amaranthus caudatus* L.) y Sangorache (*Amaranthus hybridus* L.)” de Guapi, (2014), “Utilización de la Harina de Chocho en Preparaciones Gastronómicas” Cacoango, (2012) en Chimborazo.

Por otro lado, algunas plantas como el chocho son fábricas químicas que suministran fuentes naturales de principios activos, materiales insecticidas selectivos, pesticidas botánicos y biodegradables. Cabe mencionar que estos principios activos, como los alcaloides y otros metabolitos secundarios extraídos de las plantas, son la base para la síntesis de nuevos tipos estructurales de insecticidas, fármacos, relativamente seguros para los seres vivos y su entorno, además, estos se originan de fuentes renovables. El agua de desamargado del chocho presenta propiedades biocidas siendo una herramienta tecnológica importante para el desarrollo de la agricultura y la farmacopea sustentables (Villacrés et al., 2009).

Sin embargo, en nuestro país no existe el suficiente apoyo hacia un enfoque investigativo profundo que contemple la utilidad y aplicación de sustancias antinutritivas como los alcaloides, por el contrario, se prefiere importar productos más no apoyar la investigación nacional para aprovechar la riqueza natural que se posee y evitar que se siga ahondando en una problemática como la contaminación de los recursos hídricos producida por el vertimiento directo sin previo tratamiento de los efluentes de agua desamargada del chocho. Por ello, es viable el desarrollo de este trabajo de investigación que ofrece información sobre la eficiencia de extracción y/o precipitación de los alcaloides quinolizidínicos para posteriores usos industriales y farmacéuticos.

9. CARACTERIZACIÓN TEÓRICA

9.1. El chocho (*Lupinus mutabilis sweet*)

La distribución originaria del chocho o tarwi desde la época prehispánica, abarca las regiones interandinas de Bolivia, Ecuador, Perú, Venezuela, Argentina y Chile, esta leguminosa posee una alta relevancia nutricional para animales y seres humanos debido a su alto contenido proteico (45 %). Además, especialistas manifiestan que su consumo en presentaciones tales como: cremas, guisos, postres, beneficia a los niños en el crecimiento y desarrollo de su cerebro, ya que ofrece calcio y aminoácidos (Jacobsen & Mujica, 2006).

En añadidura, de acuerdo a Caicedo et al., (2010) esta semilla es fundamental para los sistemas de producción de los pequeños y medianos productores de la Sierra ecuatoriana que abastecen la alimentación de la población. Esto se debe a que poseen aproximadamente 50% de proteína, ácidos grasos esenciales, así como, carbohidratos, minerales y vitaminas. Se siembran en áreas agroecológicas desecadas y arenosas localizadas alrededor de 2600 – 3400 m.s.n.m., convirtiéndose en una opción para la rotación y asociación de cultivos (cereales y tubérculos).

De igual importancia es la genética diversa que exhibe la planta de chocho mostrando una alta variabilidad, capacidad de adaptación edafológica. También, presenta variaciones en contenido en proteínas, precocidad, alcaloides, aceites, utilidad y tolerancia a plagas y enfermedades. Existen diferentes cambios en el color del grano, planta y flor. En la región interandina se han registrado 83 especies del género *Lupinus* (Jacobsen & Mujica, 2006).

Por otro lado, dentro del chocho se reconocen varias sustancias antinutritivas, con posible carácter tóxico que se reducen de acuerdo a los procesos de preparación, debido a la solubilidad de la mayor parte de ellas, en agua o termolábiles. Estos metabolitos secundarios son creados por la planta para protegerse del ataque de plagas y poseen un uso potencial en farmacología y medicina como potentes antioxidantes, antivirales, anticancerígenos, antimicrobianos, con capacidad quelante, etc., y en el campo industrial puede utilizarse para elaboración de barnices, pinturas, botellas plásticas (Rodríguez, 2009).

9.2. Taxonomía del *Lupinus mutabilis Sweet*

De origen andino y concerniente a la familia Leguminosae (Fabaceae), género *Lupinus*, esta leguminosa tiene por nombre científico *Lupinus mutabilis Sweet*. Su domesticación yace desde hace más de 1500 años en la época del imperio incaico, cabe recalcar que para los

habitantes de las partes elevadas de los Andes era un alimento significativo (Suca & Suca, 2015).

Abordando el comportamiento edafológico y taxonómico de esta especie, los autores Zamora et al., (2008) indican que esta muestra características de alta importancia como la resistencia a enfermedades, plagas y condiciones climáticas adversas. De esta forma se presenta la clasificación taxonómica de *L. mutabilis* Sweet:

Tronco	: Cormofitas
División	: Embriofitas sifonógamas
Sub División	: Angiosperma
Clase	: Dicotiledóneas
Sub Clase	: Arquiclamideas
Orden	: Rosales
Familia	: Leguminosas
Sub Familia	: Papilionáceas
Género	: <i>Lupinus</i>
Especie	: <i>mutabilis</i>
Nombre Científico	: <i>Lupinus mutabilis</i> Sweet
Nombre Común	: Chocho, Tarwi, Altramuz

9.3. Descripción botánica

9.3.1. Morfología

El chocho, puede cambiar entre sembrares de muchas a pocas ramas, también el tamaño que obtienen al madurar, influenciados fuertemente por la zona de cultivo. En cuanto a una visión general anatómica se han observado plantas que se cultivan en Pichincha, Cotopaxi y Tungurahua, encontrándose como aspecto más destacado la presencia de un gran número de nódulos nitrificantes que se considera que pueden llegar a pesar 50 g por planta (Gross et al., 1989; Llamba & López, 2020).

A continuación se detallan las características morfológicas de la variedad INIAP 450 ANDINO desarrollada en 1999 por el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) (Caicedo V. et al., 2010):

Tipo de crecimiento	: Herbáceo
Tipo de raíz	: Pivotante

Color de planta juvenil	: Verde intenso
Forma de hojas	: Digitadas
Color de hojas	: Verde
Forma de tallo principal	: No prominente
Largo de inflorescencia central (cm)	: 28
Color de las alas	: Púrpura
Color de la quilla	: Crema
Color de la banda marginal del estandarte	: Amarillo
Número de vainas en el eje central	: 10 a 14
Forma de la vaina	: Oblonga
Largo de vainas (cm)	: 11
Color de vaina a la floración	: Verde
Color de vaina a la cosecha	: Café/crema
Número de granos por vaina a la cosecha	: 6 a 8

9.3.2. Características de los órganos del chocho

Las plantas de chocho poseen características intrínsecas que facultan su identificación. En la tabla 2, se muestran de forma clasificada una recopilación detallada de acuerdo a varios autores sobre los órganos del chocho.

Tabla 2

*Recopilación de características de la organografía del *L. mutabilis* Sweet*

Órganos	Características
Tallo (Tapia, 1997; Zavaleta, 2018)	Generalmente, el tallo del chocho es muy leñoso abarcando elevado contenido de celulosa y fibra, con utilidad como biomasa para la combustión. La altura de la planta depende del eje principal que varía entre 0,5 a 2,0 m. Posee un color que oscila entre verde oscuro y castaño, con tono rojizo a morado oscuro en las especies silvestres. El número de ramas varía desde unas pocas hasta 52 ramas. La cantidad de vainas y de ramas fructíferas tiene correlación positiva con una buena producción.

Raíz (Cacoango, 2012)	Eje principal grueso de aproximadamente 3 m; las raíces secundarias ramificadas poseen nódulos simbióticos originados a partir del quinto día después de la germinación ante la presencia de bacterias.
Hojas (Castañeda, 1988; Tapia, 2015)	Se conforman por láminas de tipo digitada con un número variable de folíolos de 5 a 12 de forma oblonga con pequeñas hojas estipulares en la base del pecíolo. Los folíolos pueden ser elípticos o ensanchados hacia el extremo y variar de glabras a tenuemente pubescentes. La tonalidad de las hojas puede cambiar de amarillo verdoso a verde oscuro, dependiendo del contenido de antocianina.
Flores e Inflorescencia (Huamán, 2015)	"Inflorescencias en racimos; flores vistosas de un color que varía entre rojo y azul, con manchas amarillas, bisexuales, heteroclamídeas, pentámeras y zigomorfas; sépalos soldados en la base ligeramente pubescentes, corola amariposada, con el pétalo grande, ovalado que viene a ser estandarte, dos pétalos laterales simétricos denominados alas y dos internos unidos en la parte anterior y libres en la parte superior que forma la quilla o carina; androceo formado por diez estambres monodelfos, todos soldados formando el tubo estaminal que rodea el ovario; gineceo de ovario súpero unicarpelar, unilocular y multiseminado y con el estilo delgado y curvado"
Semilla (Moreno, 2008)	Se ubican dentro de vainas en números variables. Su forma varía desde redonda, ovalada hasta casi cuadrangular. Estas miden entre 0,5 a 1,5 cm, este tamaño depende de aspectos como las condiciones de crecimiento o del ecotipo o variedad. El color del grano abarca una amplia gama de colores: blanco, amarillo, ocre, gris, castaño, pardo, marrón y otros como marmoleado, media luna, ceja y salpicado.

Elaborado por: Bastidas Ximena.

9.4. Composición química y valor nutricional

Esta leguminosa posee una alta variedad de componentes químicos, destacándose la proteína y aceite que la equiparan con un producto actualmente muy comercial como la soya.

Además, hay que mencionar que existe una gran diferencia entre el grano amargo y desamargado, debido a la cantidad de alcaloides quinolizidínicos, por ejemplo, la proteína antes del proceso de desamargado alberga un 42% y después de la eliminación de alcaloides se obtiene un 51% en base seca. A lo anterior, se suma un gran contenido de aceite (18-22%), que consiste principalmente en ácidos grasos tales como: oleico (40,40%), linoleico (37,10%), linolénico (2,90%) (Villacrés et al., 2006). A continuación se describe una composición más detallada de los agentes químicos que conforman al grano de chocho amargo y desamargado:

Tabla 3*Análisis bromatológico del chocho amargo y desamargado*

Componente	Chocho amargo	Chocho desamargado
Proteína (%)	47,80	54,05
Grasa (%)	18,90	21,22
Fibra (%)	11,07	10,37
Cenizas (%)	4,52	2,54
Humedad (%)	10,13	77,05
ELN (%)	17,62	11,82
Alcaloides (%)	3,26	0,03
Azúcares totales (%)	1,95	0,73
Azúcares reductores (%)	0,42	0,61
Almidón total (%)	4,34	2,88
K (%)	1,22	0,02
Mg (%)	0,24	0,07
Ca (%)	0,12	0,48
P (%)	0,60	0,43
Fe (ppm)	78,45	74,25
Zn (ppm)	42,84	63,21
Mn (ppm)	36,72	18,47
Cu (ppm)	12,65	7,99

Fuente: (Allauca, 2005).**9.5. Usos y Aplicaciones del chocho**

Esta leguminosa de origen andino es una planta con gran potencial comercial, alimenticio, medicinal y cultural debido a sus propiedades físico-químicas que motivan su aplicación y desarrollo a nivel industrial y en la agricultura. De lo anterior, se explica algunos de los usos y aplicaciones según distintos autores (Tabla 4).

Tabla 4*Usos del Lupinus mutabilis Sweet*

Área o Importancia	Usos del chocho	Fuente
Gastronómica	Se emplea de diversas formas en preparaciones como ají, carne vegetal, yogur, leche, etc.	(Villacrés et al., 2006)
Medicinal	Por su propiedades naturales se utiliza como medicina natural para combatir la diabetes debido a un principio activo llamado “gamma conglutin”, responsable de disminuir los niveles de glucosa en la sangre.	(Del Salto, 2019)
Cultural	Es originaria de los Andes, específicamente de países como Perú, Ecuador y Bolivia. Es la unica especie de leguminosa que se domesticó y cultivó hace varios siglos en esta zona.	(Del Salto, 2019)
Comercial	Ecuador está creciendo en esta área, actualmente, se cosechan 1 725 toneladas al año que no abastecen la demanda nacional. Un estudio de mercado efectuado por técnicos del MAG mostró que el consumo promedio de chocho en Ecuador es de ocho kilos al año por habitante. Debido a la demanda insatisfecha, a los mercados ingresa chocho importado desde Perú.	(Márquez, 2020)

Elaborado por: Bastidas, Ximena.

9.6. Sustancias antinutricionales del chocho

De forma natural los granos de las leguminosas albergan una serie de sustancias con capacidad de reducir o dificultar la utilización y absorción de estos nutrientes, denominados antinutrientes, con posibles características tóxicas. Estas disminuyen al someterse a un proceso de lavado y/o calor debido a que la mayoría son solubles en agua o termolábiles (Fernández, 2017; Mitjavila, 1990). Las principales sustancias antinutricionales del *L. mutabilis Sweet* según Allauca (2005) son: taninos, nitratos, alcaloides, ácido fítico, la actividad ureasa y los inhibidores de tripsina, los mismos que por sus diversas características, por lo que reaccionan

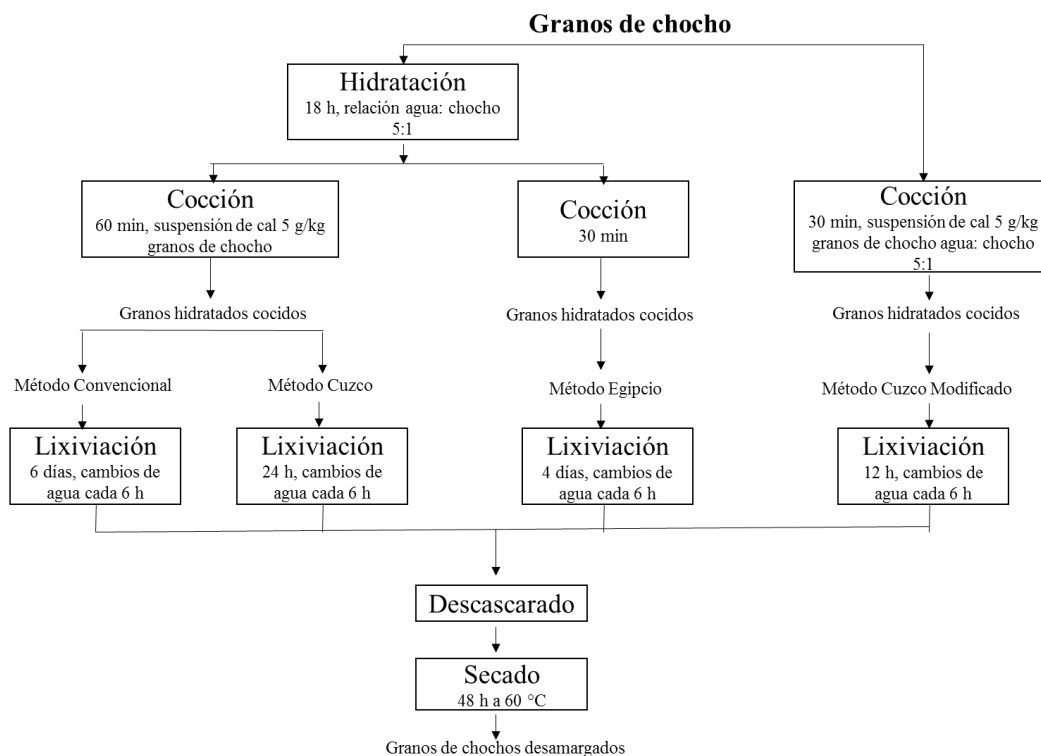
de distinta manera con las sustancias alimenticias que se ingieran. Por otra parte, los antinutrientes en las plantas sirven para control y protección de plagas, además, poseen un gran potencial farmacológico para obtención de antioxidantes, anticancerígenos, antivirales y antimicrobianos (Rodríguez, 2009). Para efecto de esta investigación se trató los alcaloides, que son las principales sustancias antinutritivas presentes en la semilla del chocho, influyendo de forma directa en su consumo por su elevado contenido que le confieren características tóxicas y un sabor amargo.

9.7. Métodos de desamargado del *L. mutabilis Sweet*

El carácter amargo del chocho (niveles altos de esparteína, lupinina y otros), lo convierte en un producto poco apetecido por aves, insectos o rumiantes. Por lo tanto, se somete a un proceso de desamargado (deslupinación) que permita su ingesta con un sabor agradable y consistencia suave (Jacobsen & Mujica, 2006). Existen varios métodos que se usan para la eliminación de estas sustancias amargas y tóxicas como se detalla a continuación en la figura 1:

Figura 1

Métodos de desamargado de chocho



Fuente: (Suca & Suca, 2015).

9.7.1. Proceso de desamargado convencional (manual)

Este método se desarrolla de una manera sencilla sin la necesidad de utilizar máquinas ni tecnología onerosa. El proceso de desamargado convencional inicia al remojar el grano en agua por un día, estos alcanzan mayor volumen (se hinchan); consecutivamente se cocinan alrededor de una hora con dos cambios de agua cada 30 minutos, contados desde el instante que empiezan a hervir. Finalmente se colocan en un recipiente apropiado (costal o canasta), dentro de un cuerpo de agua corriente aproximadamente 4 a 5 días (Jacobsen & Mujica, 2006).

9.7.2. Proceso de desamargado “CUSCO”

Este método presenta un procedimiento basado en la hidratación del grano alrededor de 18 horas. A continuación, se cocina 40 minutos. Se agrega 50 g de cenizas de tallos de quinua por cada 10 kg de lupino, resultando en una disolución de los alcaloides en un 60 - 70 %. Posteriormente se somete al lavado en una lavadora mecánica, por 8 períodos de 10 minutos cada uno, realizando cambios de agua cada 2 períodos hasta que el grano quede desamargado totalmente, separando finalmente el resto de los alcaloides. Este proceso disminuye las pérdidas alrededor del 50 al 60 % de proteínas y aceites, en contraste con el proceso tradicional. La reducción de alcaloides es 0,01 – 0,03% (Arteaga & Silva, 2015; Tapia, 1997).

9.7.3. Proceso de desamargado industrial

Se inicia con la selección, clasificación y limpieza mediante zarandas; se prosigue con la hidratación durante 12 horas; luego entra la cocción en cilindros con llave de salida u olla de presión; a continuación el lavado en cilindros con una llave de salida para permitir el flujo de agua; después secar al sol o mediante corrientes de aire caliente; finalmente almacenaje y empacado (Jacobsen & Mujica, 2006).

9.7.4. Proceso de desamargado INIAP

El Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias de Ecuador (INIAP) transformó el desamargado tradicional buscando optimizar la calidad del chocho, ya que en la aplicación convencional se contamina la semilla debido al uso de agua no potable. Este se desarrolla en 3 procesos que son hidratación (14 horas), cocción (45 minutos) y desamargado (3 días con agua en movimiento). Durante todas estas etapas recomiendan la utilización de agua potable, además, hervir el grano por 10 minutos antes de comerlo (Caicedo V. et al., 2010; Llamba & López, 2020).

9.8. Alcaloides

Durante el transcurso de la historia de nuestro planeta, el ser humano ha buscado en la naturaleza alicientes que mejoren la calidad de vida, y específicamente: la salud. En este último

aspecto, las plantas juegan un rol preponderante para aportar principios activos, precursores de un organismo estable ante enfermedades. Por consiguiente, los alcaloides como compuestos químicos derivados de una gran cantidad de plantas, son los metabolitos secundarios obtenidos de una síntesis a través de los aminoácidos, con una gran diversidad estructural y variedad en la actividad biológica despiertan un gran interés terapéutico junto a los antibióticos.

9.8.1. Origen

En el año 1819, el farmacéutico Carl Meissner empleó por primera vez el término alcaloide para referirse a los principios activos hallados en los vegetales, estos que a su vez, presentaron un carácter básico. Por consiguiente, en el año 1910 los autores Winterstein y Trier conceptualizaron los alcaloides, de forma general, como compuestos básicos, nitrogenados, de origen vegetal o animal (Chávez & Gutiérrez, 2013). Durante el siglo XIX se identificaron gran variedad de alcaloides. Algunos de ellos se describen en la Tabla 5.

Tabla 5

Orden cronológico de primeros alcaloides aislados

Año	Autor	Nombre común	Nombre científico (planta)
1805	Sertürner	Morfina	Papaver somniferum (Dormilona)
1817		Estricnina	Strychnos nux-vomica (Nuez vómica)
1820	Pelletier	Quinina	Cinchona ledgeriana (Quino, Quinquina, Quina)
1826	y Caventou	Coniina	Sarracenia flava (Planta carnívora amarilla) y Aethusa cynapium (Apio de perro)
1817		Narcotina	Familia Papaveraceae
1832	Robiquet	Codeína	Papaver somniferum (Plantas de Opio como la Dormilona)
1820	Runge	Caféina	Coffea arabica (Café)
1831	Mein	Atropina	Atropa belladonna (Belladona) y otras plantas de la familia Solanaceae

Elaborado por: Bastidas, Ximena.

Fuentes: (Arango, 2008; Gennaro, 2003).

9.8.2. Clasificación

Según Son estructuras químicas muy variables que les confieren una complejidad al clasificarlas. Existen algunas perspectivas que explican su división. De forma general, se utiliza una clasificación biogenética, esto es, por la formación u origen en el vegetal (Ver Anexo 1). Cabe resaltar, que la mayoría de los alcaloides provienen de unos pocos aminoácidos, de cadenas abiertas o aromáticas. Esta forma de sistematización de los metabolitos secundarios, es coincidente, en gran parte con la clasificación química (Chávez & Gutiérrez, 2013).

9.8.3. Efectos farmacológicos

Según Lombardo & Ortiz (2009), los alcaloides presentan una gran diversidad en sus estructuras químicas, estas actúan de distintas formas sobre los sistemas que impulsan al cuerpo humano. Algunas de las actividades farmacológicas con mella en los sistemas nervioso central y autónomo se enlistan en la tabla 6.

Tabla 6

Efectos farmacológicos de los alcaloides sobre el ser humano

Sistema del cuerpo humano	Alcaloide	Actividad
	Morfina (<i>Papaver somniferum</i>)	Anestésica
Sistema Nervioso Central	Cafeína (<i>Coffea arábica</i>) y Nicotina del tabaco (<i>Nicotiana tabacum</i>)	Estimulante del Sistema Nervioso Central
	Pilocarpina de las hojas de jaborandi	Propiedades parasimpaticolíticas
	Atropina (<i>Atropa Belladona</i>)	Anticolinérgica
Sistema Nervioso Autónomo	Escopolamina (<i>Hyosciamus albus</i>)	Competidor opuesto de las sustancias que estimulan el parasimpático
	Vincristina o Vinblastina (<i>Vinca rosea</i> y <i>Vinca minor</i>)	Inhibidores de la mitosis celular, agentes antineoplásicos (antitumoral), con alta eficacia en el tratamiento de determinados tipos de cáncer.
Otros sistemas	Alcaloides varios	Antiespasmódicos, antitusivos, diuréticos, sedantes, antiinflamatorios, con aplicaciones dermatológicas, etc.

Elaborado por: Bastidas, Ximena.

9.8.4. Alcaloides Quinolizidínicos (AQ)

Los alcaloides quinolizidínicos (AQ) pertenecen a un conjunto de principios activos tóxicos ubicados en el género *Lupinus*, este género alberga cultivos de leguminosas con una gran importancia comercial, por nombrar algunas tenemos: *L. luteus* (lupino amarillo), *L. angustifolius* o Lupino de hoja estrecha (NLL), el *L. albus* (blanco lupino) y *L. mutabilis* (lupino perlado) (Martínez & Acosta, 2020).

Este grupo de alcaloides se localizan en las familias solanáceas, berberidáceas, quenopodiáceas, rubiáceas, ranunculáceas y fabáceas. Esta última familia acoge, específicamente, a los chochos que originan a los metabolitos secundarios en el aminoácido lisina, y su biosíntesis se produce en las partes aéreas de las plantas. Dentro de estas, se resaltan alcaloides como la esparteína, debido a su accionar terapéutico. Generalmente, son bloqueantes ganglionares, que reducen la frecuencia, conductividad y amplitud de las contracciones cardíacas. A nivel periférico, poseen una actividad bloqueante neuromuscular. Además, en este grupo existen otros alcaloides causantes de hepatotoxicidad (Arango, 2008; Chávez & Gutiérrez, 2013).

9.9. Métodos de identificación y extracción de alcaloides quinolizidínicos (AQ)

Para la identificación o detección cualitativa de los AQ se emplean reactivos generales, por ejemplo, el reactivo de Dragendorff (tetrayodo bismuto de potasio), reactivo de Wagner (solución de yodo-yoduro de potasio), reactivo de Hager (solución de ácido pícrico), reactivo de Bertrand (ácido sílico túngstico), reactivo de Ehrlich (p-dimetilamino benzaldehído), reacción de Vitali-Morin (nitricación de alcaloides - se utiliza para alcaloides en estado base), reactivo de Mayer (mercurio tetrayoduro de potasio) (Bruneton, 2001). Asimismo, estas se fundamentan en la capacidad que presentan los alcaloides en estado de sal (extractos ácidos), de combinarse con el yodo y metales pesados como mercurio, bismuto, tungsteno formando precipitados (Arango, 2008).

Por otro lado, según Apaza & Calienes (2016), el método más común de extracción de alcaloides es por medio del uso de solventes no polares como el benceno, dietiléter, éter de petróleo, ciclohexano, cloroformo, etc. Sin embargo, se pueden distinguir 3 métodos de extracción de acuerdo al tipo de disolvente utilizado para liberar los alcaloides, contenidos normalmente en las vacuolas, rompiendo la célula, estos son:

- Agua acidulada. - Se encuentran a los alcaloides como sales, mediante agua acidulada separamos los alcaloides en forma de sales. Aunque el agua extrae muchas impurezas (aminoácidos, proteínas, etc.). Se aplica para purificaciones cromatográficas, la industria farmacéutica alemana emplea este procedimiento para la extracción de la morfina. Además, se filtra el extracto agregando un alcalí; tras la alcalinización se puede extraer con

disolventes orgánicos (Arango, 2008).

- Disolventes orgánicos polares.- Se utiliza para la extracción alcohol 70° acidulado, elimina impurezas, sin embargo, se prefiere la separación en un medio acuoso; la muestra filtrada se somete a un proceso de deshidratación, se alcaliniza y se extrae con un disolvente orgánico apolar (Bruneton, 2001; Guamán, 2010).
- Disolventes orgánicos apolares.- Como se hacía mención, es el método más empleado para liberar los alcaloides. Se utiliza un álcali, normalmente amoníaco, para empapar al fármaco estudiado. Algunas bases débiles pueden ser aplicadas como el carbonato sódico, bicarbonato sódico (Bruneton, 2001; Guamán, 2010).

Además, para el proceso de extracción hay que considerar varios factores como se muestran a continuación:

Tabla 7

Diversos enfoques de extracción

N°	Condiciones influyentes
1	Duración de la extracción
2	El disolvente empleado
3	Temperatura
4	pH del disolvente empleado
5	Reducción del tamaño de la muestra vegetal
6	Relación de disolvente: muestra

Fuente: (Agarwal et al., 2016)

9.10. Información del Reactivo Mayer

Existen diversas técnicas para detectar los metabolitos secundarios presentes en una muestra de interés, en este caso, el agua desamargada del chocho. Para esta investigación, se empleará el tamizaje fitoquímico que consiste en la identificación de alcaloides encontrados en las plantas o productos naturales mediante solventes apropiados (Guamán, 2010).

Consecuentemente, el reactivo de Mayer permite detectar en una muestra la presencia de alcaloides, por ende, “si la alícuota del extracto está desleída en un solvente orgánico, este debe evaporarse en baño de agua y luego se disuelve en 1ml de ácido clorhídrico al 1 % en agua. Si el extracto es acuoso, se añade 1 gota de ácido clorhídrico concentrado, (calentar suavemente y dejar enfriar hasta acidez). Con la solución acuosa ácida se realiza el ensayo, añadiendo gotas (ml) del reactivo de Mayer, si hay opalescencia se considera (+), turbidez definida (++) , precipitado (+++)” (Arango, 2008; Bruneton, 2001; Guamán, 2010; Lock de Ugaz, 1994).

Tabla 8. Legislación que aborda la investigación

Artículo	Normativa legal	Extracto
12		El derecho humano al agua es fundamental e irrenunciable.
32		La salud es un derecho vinculado a otro como el agua.
66, numeral		Las personas tienen garantías del Estado para acceder a una vida digna que engloba agua potable, salud, alimentación, saneamiento ambiental, etc...
2		Recuperar y conservar la naturaleza garantizando a las personas y colectividades el acceso equitativo, permanente y de calidad al agua, aire y suelo, etc...
276, numeral 4		La soberanía alimentaria promoviendo políticas redistributivas que permitan el acceso del campesinado a la tierra, al agua y otros recursos productivos.
281, numeral 4	Constitución del Ecuador 2008	El Estado será responsable de la provisión de los servicios públicos de agua potable y de riego, saneamiento, etc...
314		"El Estado garantizará la conservación, recuperación y manejo integral de los recursos hídricos, cuencas hidrográficas y caudales ecológicos asociados al ciclo hidrológico. Se regulará toda actividad que pueda afectar la calidad y cantidad de agua, y el equilibrio de los ecosistemas, en especial en las fuentes y zonas de recarga de agua. La sustentabilidad de los ecosistemas y el consumo humano serán prioritarios en el uso y aprovechamiento del agua"
411		Los gobiernos autónomos descentralizados desarrollarán programas de uso racional del agua, y de reducción reciclaje y tratamiento adecuado de desechos sólidos y líquidos.
415		El derecho humano al agua es el derecho de todas las personas a disponer de agua limpia, suficiente, salubre, aceptable, accesible y asequible para el uso personal y doméstico en cantidad, calidad, continuidad y cobertura.
57	Ley Orgánica de Recursos	Mujer y derecho humano al agua.
62	Hídricos, Usos y Aprovechamiento	Se consideran como vertidos las descargas de aguas residuales que se realicen directa o indirectamente en el dominio hídrico público.
80	del Agua	Queda prohibido el vertido directo o indirecto de aguas o productos residuales, aguas servidas, sin tratamiento y lixiviados susceptibles de contaminar las aguas del dominio hídrico público.

1	Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2169:2013	Esta norma establece las técnicas y precauciones generales que se deben tomar para conservar y transportar todo tipo de muestras de agua.
1	Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2176:2013	Esta norma establece guías sobre las técnicas de muestreo usadas para obtener los datos necesarios en los análisis de control de calidad, de las aguas naturales, aguas contaminadas y aguas residuales para su caracterización.
1 7.2	Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2390:2004	Esta norma establece los requisitos de calidad que debe cumplir el grano de chocho desamargado para consumo humano. Determinación de alcaloides del chocho.

Fuente: (Constitución de la República del Ecuador, 2008; Ley Orgánica de Recursos Hídricos, Usos y Aprovechamiento del Agua, 2014; NTE INEN 2 390:2004, 2004; NTE INEN 2169:2013 (Primera revisión), 2013; NTE INEN 2176:2013 (Primera revisión), 2013).

10. BASE LEGAL

La normativa legal enmarca principalmente el agua que se utiliza de forma desproporcional durante el proceso de desamargado de chocho, además, se considera la contaminación generada al verter efluentes provenientes del desamargado de chocho sin previo tratamiento hacia los cuerpos hídricos.

11. HIPÓTESIS

H₀: La aplicación del método Mayer permitió evaluar la eficiencia en una precipitación igual al 70 % de los alcaloides presentes en los efluentes del proceso de desamargado del *Lupinus mutabilis Sweet*.

H₁: La aplicación del método Mayer permitió evaluar la eficiencia en una precipitación mayor al 70 % de los alcaloides presentes en los efluentes del proceso de desamargado del *Lupinus mutabilis Sweet*.

12. METODOLOGÍA

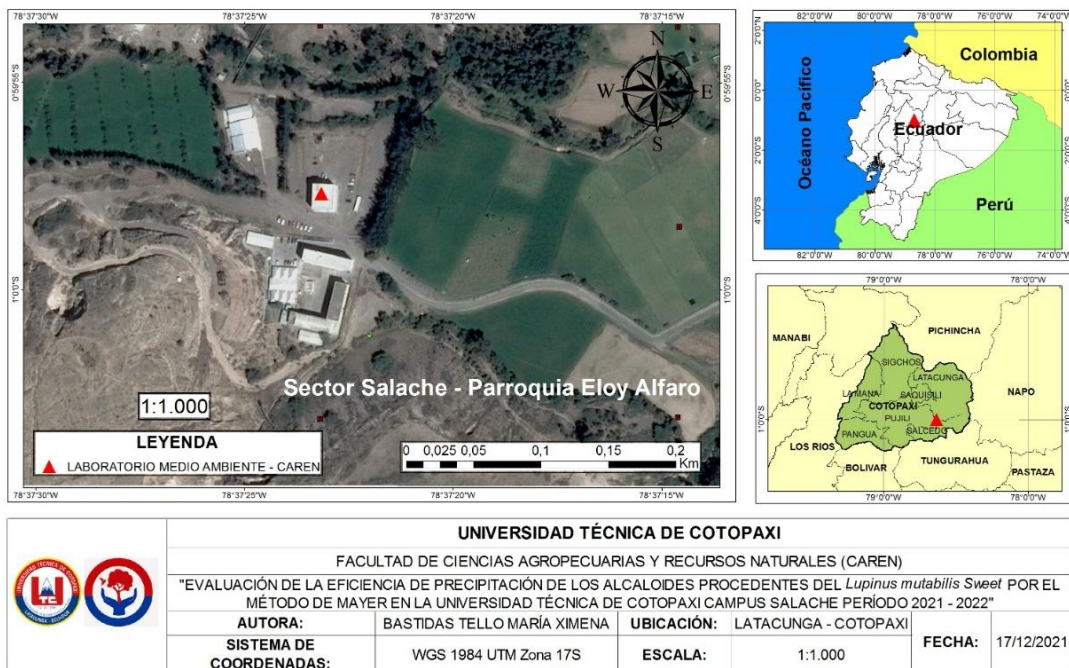
12.1. Área de estudio

12.1.1. Ubicación

Al suroeste de la provincia de Cotopaxi, se encuentra la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales (CAREN), perteneciente a la Universidad Técnica de Cotopaxi. Este Campus se localiza en el Sector Salache correspondiente a la parroquia Eloy Alfaro; actualmente ofrece a los estudiantes universitarios 5 carreras que son: Ingeniería Ambiental, Ingeniería Agroindustrial, Ingeniería Agronómica, Medicina Veterinaria y Licenciatura en Turismo. La carrera de ingeniería ambiental tiene a su disposición un laboratorio funcional que se utilizó para la ejecución de la parte experimental de esta investigación.

Figura 2.

Ubicación del laboratorio de la carrera medio ambiente - CAREN



Fuente: Sistema de georreferenciación Q-Gis.

12.2. Tipo de investigación

12.2.1. Investigación descriptiva: La investigación, en general, refiere a partir de la bibliografía analizada y los resultados obtenidos, la eficiencia de precipitación de alcaloides mediante el reactivo Mayer y los factores propuestos. Con este experimento, se detalla las condiciones más idóneas para la detección y separación de alcaloides quinolizidínicos.

12.2.2. Investigación Experimental: La metodología parte de un procedimiento experimental, es decir, se aplica un diseño previamente elaborado para la consecución de resultados bajo condiciones controladas. La práctica en laboratorio permito la detección y cuantificación de la extracción de alcaloides para una posterior valoración de la eficiencia del reactivo de Mayer.

12.3. Método de identificación de alcaloides

Una técnica de caracterización debe ser en lo posible: rápida, simple, reproducible, sensible y llevada a cabo con una cantidad mínima de muestra. Los métodos de caracterización, se realizan después de una extracción previa y consiste en forma general en una precipitación de los alcaloides, con reactivos bastante específicos: reactivos generales de alcaloides.

Estas reacciones se fundan en la capacidad que tienen los alcaloides de combinarse con metales pesados, bismuto, mercurio, tungsteno o yodo. En la práctica se emplean el reactivo de Mayer, Dragendorff, etc. (Ney Rodrigo Villacreses Freire, 2011)

12.3.1. Aplicación del Reactivo de Mayer

Al presentarse una extensa diversidad de alcaloides se recurre a una amplia gama de pruebas cualitativas o de precipitación, que resultan positivas con grupos específicos de estas sustancias. Las reacciones o soluciones se basan en la capacidad de los alcaloides en estado de sal (extractos ácidos), para combinarse con los metales pesados (Bi, Hg o I), formando precipitados. Uno de estos reactivos es la solución Mayer que consiste en el precipitado de alcaloides debido a su acidez en forma de sales (Clorhidratos), ya que en medios básicos el reactivo Mayer no precipita. Los posibles colores resultantes de este proceso son blanco o amarillo claro, cristalino o amorfo.

En adición, la reacción de Mayer, es una reacción de precipitación empleada para identificar de manera cuantitativa los alcaloides totales en esta investigación, la cual se utilizó como un medio ácido (desamargado del chocho) al añadir el reactivo de Mayer se presentaría como una opalescencia leve (+), una turbidez definida (++) o precipitación abundante (+++) variando de acuerdo a la concentración del alcaloide. (Arango, 2008; Barrera et al., 2014; Bucay, 2010).

12.4. Práctica de laboratorio

12.4.1. Equipos y materiales

Bureta de 25 mL

Centrífuga Hettich Rotofix 32 A

Balanza analítica Radwag AS 220/X

Agitador magnético AREC Velp Scientifica

Pipetas volumétricas

Embudos

Tubos de centrífuga

Algodón

Vasos de precipitación de 50,100 mL

12.4.2. Reactivos

Hidróxido de Potasio al 15%

Cloroformo

Ácido sulfúrico 0.01N

Reactivo de Mayer.

Rojo de metilo

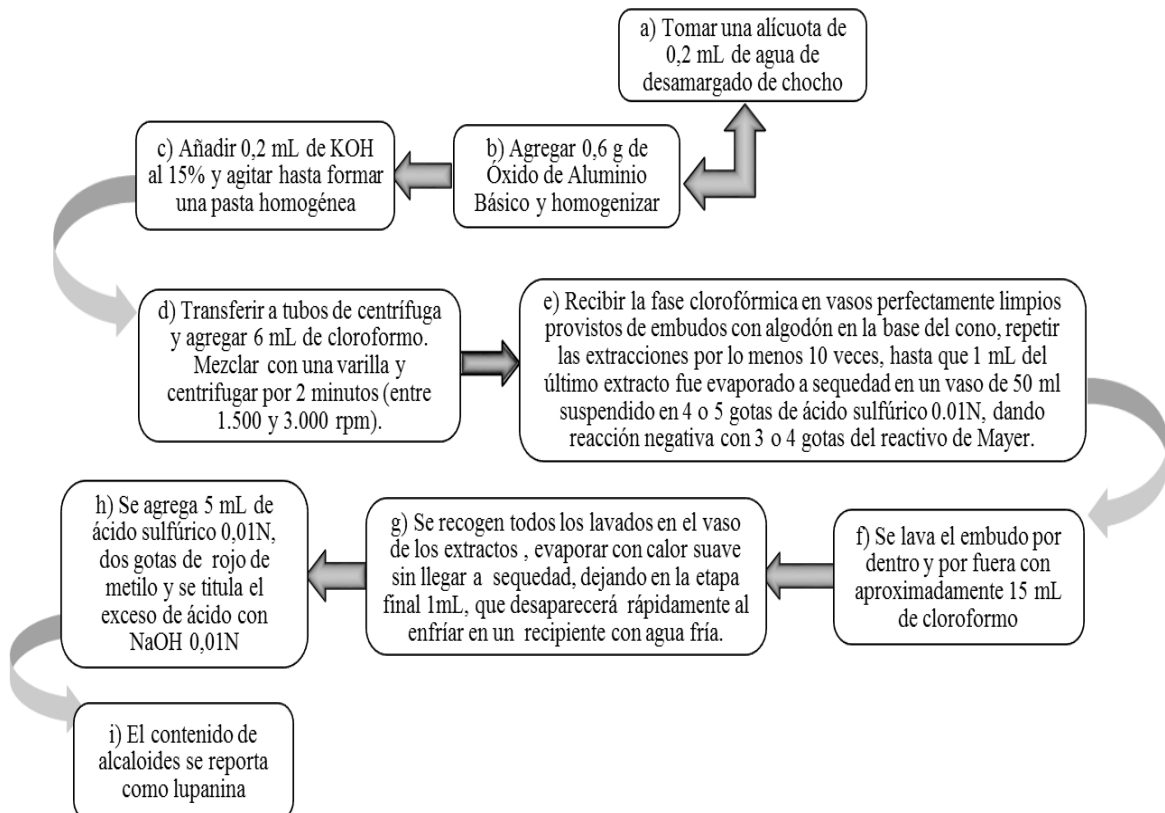
Hidróxido de Sodio 0.01N

Oxido de Aluminio básico

12.5. Procedimiento

Figura 3

Determinación cuantitativa de alcaloides



Fuente: (NTE INEN 2 390:2004, 2004; Rodríguez Basantes, 2009).

12.6. Cálculos:

La fórmula empleada en el cálculo del porcentaje de alcaloides es la siguiente:

$$\% \text{ Alcaloides} = \frac{\text{mL NaOH } 0,01 \text{ N} * 0,01 \text{ N} * 248 \text{ g}}{Pm}$$

Dónde:

mL NaOH = Volumen gastado de titulante

0.01N = Concentración exacta de Normalidad del NaOH

248g = Peso molecular de la lupanina

Pm= Peso de la muestra (g) (1g = 1mL)

Fuente: (Fernández Cheza, 2017; NTE INEN 2 390:2004, 2004).

13. DISEÑO EXPERIMENTAL

Este experimento factorial del tipo comparativo, estableció comparaciones entre las muestras que se someten a distintos tratamientos. Al ser un trabajo experimental se pudo controlar los factores (A, B y C), que influyen en el factor de respuesta (Porcentaje de alcaloides), este procedimiento permitió controlar las condiciones estableciendo las precipitaciones, entre los factores controlados y los resultados, esto se denomina como un experimento diseñado que, a su vez, es reconocido como uno de los métodos más potentes en la ciencia. A continuación, se muestra el esquema del diseño experimental aplicado en la presente investigación:

Tabla 9

Arreglo factorial 3³ - Aplicación de reactivo de Mayer para determinar la eficiencia de precipitación de los alcaloides procedentes del agua de desamargado del chocho.

Tratamientos (ml reactivo de Mayer/ 20 ml de agua desamargada chocho)	Velocidad de Agitación - Revoluciones por Minuto (RPM)	Tiempo de agitación (minutos)		
		X (10 minutos)	XV (15 minutos)	XXX(30 minutos)
T1 (0,5)	60	T1-60-X	T1-60-XV	T1-60-XXX
	90	T1-90-X	T1-90-XV	T1-90-XXX
	120	T1-120-X	T1-120-XV	T1-120-XXX
T2 (0,7)	60	T2-60-X	T2-60-XV	T2-60-XXX
	90	T2-90-X	T2-90-XV	T2-90-XXX
	120	T2-120-X	T2-120-XV	T2-120-XXX
T3 (1,0)	60	T3-60-X	T3-60-XV	T3-60-XXX
	90	T3-90-X	T3-90-XV	T3-90-XXX
	120	T3-120-X	T3-120-XV	T3-120-XXX

Fuente: Bastidas, Ximena.

14. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

Se evaluó el método de identificación de alcaloides, que consiste en la aplicación del reactivo de Mayer a diferentes dosis (0,5 mL; 0,7 mL; 1,0 mL) en muestras de agua desamargada del chocho (20 mL) bajo la influencia de 3 velocidades de agitación (60, 90 y 120 RPM), y 3 niveles de tiempo (10, 15 y 30 minutos). El resultado obtenido es la detección positiva de alcaloides quinolizidínicos con un color crema (Tabla 10).

Tabla 10

Resultados del análisis según la detección de alcaloides con el método del color Mayer

Tratamientos (ml reactivo de Mayer/ 20 ml de agua desamargada chocho)	Velocidad de Agitación - Revoluciones por Minuto (RPM)	Tiempo de agitación (minutos)			Prueba química	Resultado	Observaciones
		X(10 minutos)	XV (15 minutos)	XXX (30 minutos)			
T1 (0,5)	60	T1-60-X	T1-60-XV	T1-60-XXX	Mayer	+++	Precipitado crema
	90	T1-90-X	T1-90-XV	T1-90-XXX	Mayer	+++	Precipitado crema
	120	T1-120-X	T1-120-XV	T1-120-XXX	Mayer	+++	Precipitado crema
T2 (0,7)	60	T2-60-X	T2-60-XV	T2-60-XXX	Mayer	+++	Precipitado crema
	90	T2-90-X	T2-90-XV	T2-90-XXX	Mayer	+++	Precipitado crema
	120	T2-120-X	T2-120-XV	T2-120-XXX	Mayer	+++	Precipitado crema
T3 (1,0)	60	T3-60-X	T3-60-XV	T3-60-XXX	Mayer	+++	Precipitado crema
	90	T3-90-X	T3-90-XV	T3-90-XXX	Mayer	+++	Precipitado crema
	120	T3-120-X	T3-120-XV	T3-120-XXX	Mayer	+++	Precipitado crema

(*) Los resultados se reportan: Poco (+), regular (++), Abundante (+++), Negativo (-).

Fuente: Bastidas, Ximena.

A continuación, se valoró cuantitativamente la presencia de alcaloides en el agua desamargada del *L. mutabilis* Sweet, con el objeto de establecer el porcentaje removido de alcaloides y verificar la eficiencia de precipitación con el método Mayer. Esto se efectuó una vez aplicado los factores y niveles experimentales, mediante el método descrito en la Norma INEN 2390:2004 propuesto por Von Baer y colaboradores, (1979); modificado por la Escuela Politécnica Nacional, por Vera Julio (1982). Los resultados arrojaron una concentración media de 15,66% de alcaloides remanentes, alcanzando una remoción máxima de 87,60% en dos tratamientos (T1-120-XXX, T2-120-XXX) y una mínima de 80,16% (T1-90-XV) (Tabla 11).

En este sentido, Rodríguez (2009) durante la investigación “Evaluación in vitro de la actividad antibacteriana de los alcaloides del agua de desamargado del chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet), cuantificó una concentración de 36% de alcaloides en el agua de cocción del chocho, presentando valores superiores a los de la actual investigación. De la misma forma, Aguilar (2021) aplicando el método Superficie de Respuesta obtuvo un porcentaje de 44,10% luego de hidratar (13 horas) y cocinar (1 hora), arrojando una tasa elevada de alcaloides en el efluente.

Tabla 11.

Porcentaje de alcaloides removidos durante la ejecución del arreglo factorial 3x3x3

Tratamientos (ml reactivo de mayer/ 20 ml de agua desamargada chocho)	Velocidad (Agitación Revoluciones por Minuto RPM)	Tiempo de precipitado		
		I (10 minutos)	II (15 minutos)	III (30 minutos)
T1 (0,5)	60	85,12%	81,40%	82,64%
	90	83,88%	80,16%	83,88%
	120	85,12%	83,88%	87,60%
T2 (0,7)	60	83,88%	85,12%	86,36%
	90	83,88%	83,88%	85,12%
	120	82,64%	85,12%	87,60%
T3 (1,0)	60	85,12%	82,64%	85,12%
	90	86,36%	83,88%	83,88%
	120	83,88%	82,64%	86,36%

Elaborado por: Bastidas, Ximena.

El análisis de los datos estadísticos ejecutados mediante el arreglo multifactorial 3x3x3 se llevó a cabo en el software Minitab Statistical 20. El criterio para determinar la eficiencia de precipitación con el reactivo Mayer es el porcentaje de alcaloides removidos del agua desamargada del chocho.

Además, para determinar la significancia estadística de los efectos A (Concentración del reactivo Mayer), B (Tiempo de agitación) y, C (Velocidad de Agitación RPM) se realizó un análisis de varianza, como se indica en la tabla 12. Este permitió detectar a un nivel de confianza del 95%, diferencias significativas para los tratamientos A ($4,56 > 4,46$) y C ($4,84 > 4,46$),

mientras que para el tratamiento B ($17,95 > 4,46$) se encontraron diferencias altamente significativas. Por otro lado, según la prueba de significancia Tukey al 0,05, existen diferencias significativas en las interacciones de dos términos AB ($6,51 > 3,84$), AC ($4,28 > 3,84$) y BC ($5,12 > 3,84$), es decir, si se encontraron variaciones entre los tratamientos. El coeficiente de variación es bajo (11,01%) denotando un buen manejo del experimento.

No obstante, cabe resaltar que los valores bajos de p ($p \leq 0,05$) revelaron una asociación estadística significativa entre el porcentaje de alcaloides precipitados (respuesta) y cada uno de los factores analizados (A, B y C). Por lo tanto, se rechazó la hipótesis nula ($H_0: \bar{X} = 70\%$), apoyada en que el porcentaje de alcaloides removido es igual al 70%. En cambio, se aceptó la hipótesis alternativa ($H_1: \bar{X} > 70\%$) que expresa una remoción superior al 70% de alcaloides.

Tabla 12.

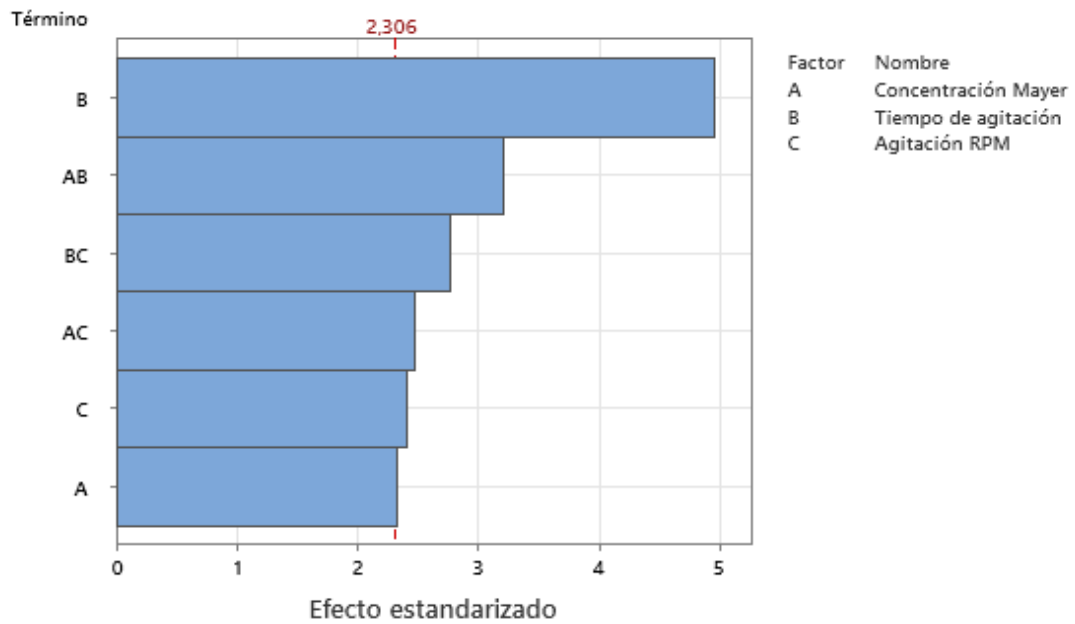
Análisis de Varianza para porcentaje de alcaloides

Fuente	GL	SC	MC	Valor	F	Valor
		Ajust.	Ajust.	F	crítica	p
Modelo	18	72,438	4,0243	6,57		0,005
Lineal	6	33,486	5,5809	9,12		0,003
Concentración Mayer	2	5,581	2,7905	4,56*	4,46	0,048
Tiempo de agitación	2	21,982	10,9910	17,95	4,46	0,001
				**		
Agitación RPM	2	5,923	2,9613	4,84*	4,46	0,042
Interacciones de 2 términos	12	38,953	3,2460	5,30		0,012
Concentración Mayer*Tiempo de agitación	4	15,945	3,9864	6,51*	3,84	0,012
Concentración Mayer*Agitación RPM	4	10,478	2,6196	4,28*	3,84	0,038
Tiempo de agitación*Agitación RPM	4	12,529	3,1321	5,12*	3,84	0,024
Error	8	4,898	0,6122			
Total	26	77,336				

Por otra parte, se observó como factor determinante el tiempo de agitación (B), seguido de la interacción AB y BC, demostrando una mayor incidencia en el porcentaje de alcaloides precipitados. Los resultados de los efectos se graficaron en el diagrama de Pareto (Figura 4).

Figura 4

Efectos estandarizados (la respuesta es Porcentaje de alcaloides; $\alpha=0,05$)

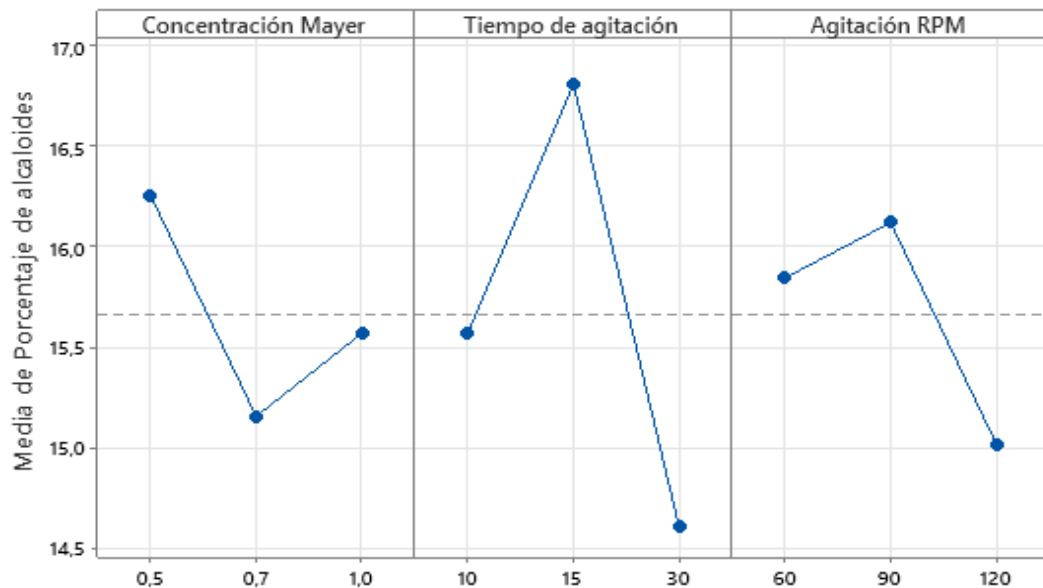


Elaborado por: Bastidas Ximena.

Por consiguiente, a nivel más específico se presentaron los efectos principales sobre el porcentaje de alcaloides obtenido (Medias ajustadas), en la figura 5 se detectaron los valores más bajos de alcaloides a 0,7 mL, 30 minutos y 120 revoluciones por minuto (RPM), para los factores concentración de reactivo de mayer, tiempo de agitación y velocidad de agitación (RPM), respectivamente. En este punto, Carvajal et al., (2013) y Gutiérrez, et al., (2016) determinaron que la pérdida de alcaloides y sólidos aumenta por la presencia de un agitador, resaltando que este factor es más trascendente que la frecuencia de cambio de agua. También, se observó que los valores más altos de alcaloides respecto a la Concentración del reactivo de Mayer, se producen a 0,5 mL indicando una proporción directa entre el reactivo y la precipitación de alcaloides, es decir, a menor concentración del compuesto se produce una menor precipitación de alcaloides. También, los autores Seguil et al., (2019) expresan que existe relación directa entre la agitación y la extracción de alcaloides quinolizidínicos, en su investigación obtienen un porcentaje de alcaloides removidos en un 99,15% a una velocidad de agitación de 120 RPM.

Figura 5

Efectos principales para Porcentaje de alcaloides (Medias ajustadas).

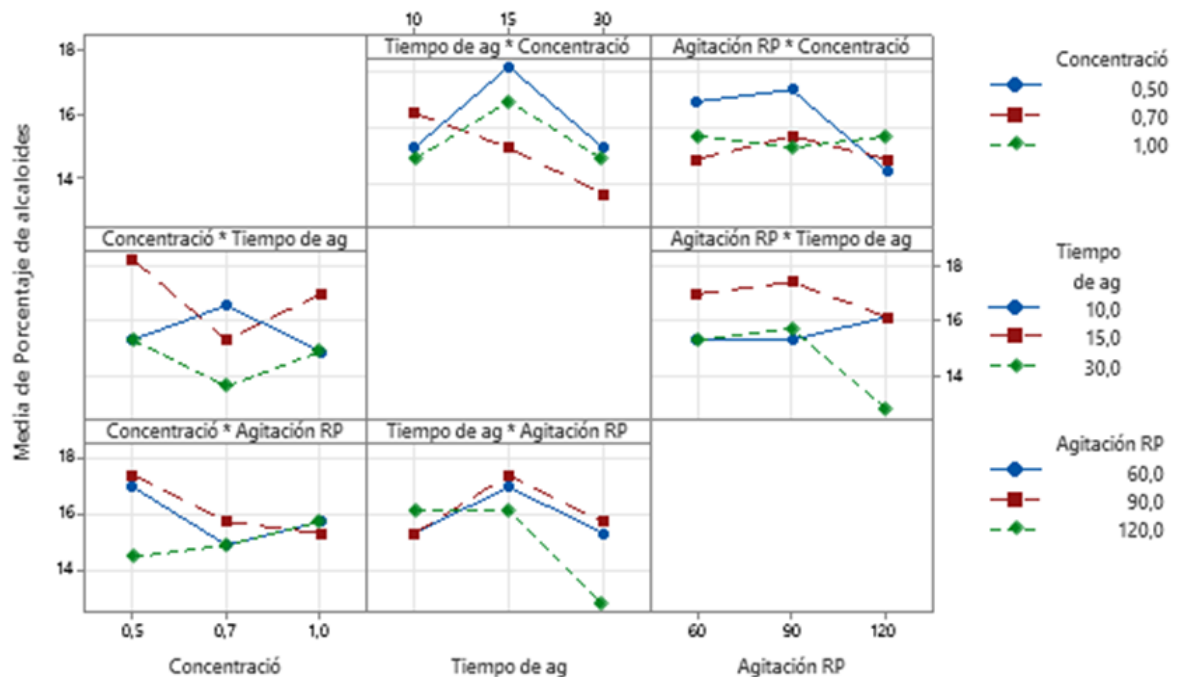


Elaborado por: Bastidas Ximena.

Finalmente, se tiene una interacción entre los factores sobre el porcentaje de alcaloides. En primera instancia, se observó una influencia favorable en la remoción de alcaloides, del tiempo y la velocidad de agitación sobre la concentración a niveles generales de 30 minutos y 120 RPM, respectivamente. Luego, se encontró que la concentración del reactivo y la velocidad de agitación del agua desamargada influyen en el tiempo de experimentación, con valores de 0,7 mL a 15 y 30 minutos en la interacción AB; y, a 120 RPM durante 15 y 30 minutos en BC. Por otra parte, se visualizó que para la velocidad de agitación, la incidencia de la concentración y el tiempo es de aproximadamente 0,7 mL y 30 minutos, respectivamente.

Figura 6

Interacción para Porcentaje de alcaloides (Medias ajustadas)



Elaborado por: Bastidas Ximena.

14.1. Usos y Aplicaciones del efluente del *Lupinus Mutabilis Sweet*

Por último, se realizó una revisión bibliográfica sobre los usos y aplicaciones del efluente desamargado de chocho, estableciéndose de acuerdo a sus propiedades biocidas como una herramienta tecnológica importante para el desarrollo de la agricultura y la farmacopea sustentables (Villacrés et al., 2009). En añadidura, Rodríguez (2009) formula que los anti nutrientes en las plantas sirven para control y protección de plagas, además, poseen un gran potencial farmacológico para obtención de antioxidantes, anticancerígenos, antivirales y antimicrobianos. Por mencionar algunas investigaciones, los autores Arias et al., (2019) han determinado que los alcaloides poseen efectividad como desparasitante interno, es decir, la aplicación del extracto proveniente del *Lupinus mutabilis Sweet* sobre parásitos como la *Eimeria sp*, *Ord Stróngylidea*, *Paraspidodera uncinata* y *Trichuris muris* controlan la proliferación de los mismos. De igual manera, a escala nutracéutica, Muñoz et al., (2018) determinaron que el uso de *L. mutabilis* crudo, hervido, o de sus alcaloides reducen los niveles elevados de glucosa en pacientes con disglucemia o Diabetes tipo-2.

Por otra parte, el estudio realizado por Panta & Zavaleta (2021), que consistió en evaluar la influencia de alcaloides del *L mutabilis Sweet* y pH en la remoción de cromo de efluentes provenientes de las curtiembres, se utilizó tres agentes de tratamiento correspondientes a los

métodos de obtención de alcaloides: Agua de desamargado de tarwi aplicación directa, agua desamargado concentrada a rota evaporación y extracto liofilizado de agua de desamargado bajo tres niveles de pH (4.0, 6.0 y 8.0) y niveles de dosis distintas de alcaloides del chocho, se estableció un porcentaje de remoción de 70.75% y una capacidad de remoción de 310.31 mg/g, determinando el tratamiento más adecuado a un pH 8 y una dosis 7.98 mg de alcaloides.

14.2. Usos de los alcaloides

El uso y aplicación de los alcaloides encontrados en el chocho es bastante extenso y con gran potencial de desarrollo en campos como la agricultura, salud, industria, ambiente etc., por tanto se puede aplicar los tratamientos más adecuados según esta investigación para precipitar alcaloides y reutilizarlos en investigaciones futuras de las áreas ya mencionadas.

Los alcaloides recuperados llegarían aportar con altos niveles de nitrógeno, lo cual ayudaría al crecimiento bacteriano y de plantas acuáticas en proyectos de Biorremediación y Fito remediación.

Son varios los usos que se les proporciona a los alcaloides, ya sea como agentes insecticidas, antiparasitarios, fungicidas, plaguicidas, bactericidas, nematocidas y/o farmacéuticos. En este apartado se describen algunos ejemplos de la utilización de estos bioactivos.

De este modo, los autores Arias et al., (2019) han determinado que los alcaloides poseen efectividad como desparasitante interno, es decir, la aplicación del extracto proveniente del *Lupinus mutabilis Sweet* sobre parásitos como la Eimeria sp, Ord Stróngylidea, Paraspidodera uncinata y Trichuris muris controla la proliferación de los mismos. También, a escala nutracéutica, Muñoz et al., (2018) determinaron que el uso de *L. mutabilis* crudo, hervido, o de sus alcaloides reducen los niveles elevados de glucosa en pacientes con disglucemia o Diabetes tipo-2. Finalmente, de acuerdo a Rodríguez (2009), alcaloides quinolizidínicos como la lupanina, esparteína, 13-Hidroxilupanina, angustifolina, impiden el desarrollo de las siguientes bacterias: Staphylococcus aureus, bacilo subtilis, E. coli. Y manifiesta que tanto la lupanina como la esparteína tienen una acción anti fúngica, mientras que, los bioactivos 13-oxoesparteína, lupinina, etc., poseen potencial como insecticidas al inhibir su proceso alimenticio, afectando su supervivencia.

15. IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES, ECONÓMICOS)

15.1. Impactos Técnicos

El desarrollo del sistema de precipitación de alcaloides del efluente de desamargado de *Lupinus Mutabilis Sweet* mediante el reactivo de Mayer, compuesto no corrosivo para la salud, permitió establecer condiciones adecuadas para la remoción de estos metabolitos secundarios proyectando el uso de los mismos como biocidas naturales en la agricultura.

15.2. Impactos Sociales

Se ha desarrollado una metodología con las condiciones adecuadas para la extracción eficiente de alcaloides del *L. mutabilis Sweet*, que servirá para futuras investigaciones que busquen reutilizar los alcaloides como bactericida y cicatrizante, brindando una alternativa ecológica a la aplicación excesiva de alcohol, un elemento dañino para la piel.

15.3. Impactos Ambientales

Con el aporte de una metodología práctica y resultados viables para la consecución de los tratamientos más eficientes en la remoción de alcaloides, el aprovechamiento de los efluentes del desamargado del chocho permitirá una reducción significativa de alcaloides vertidos indiscriminadamente a cuerpos de agua.

15.4. Impactos Económicos

La precipitación de estos alcaloides es relativamente económica ya que para su precipitación se requiere de insumos básicos y materias primas accesibles. Además, la materia prima que es el chocho se comercializa en abundancia y a bajo costo en regiones del centro-sur del Ecuador.

16. PRESUPUESTO

Tabla 13

Presupuesto para el proyecto

Recursos	Descripción	Unidades	Valor unitario	Valor total
Gastos operacionales	Transporte	1	6	90
	Alimentación	1	3	45
Equipos	Cámara fotográfica	1	150	150
	Computadora	1	200	200
Materiales de mesa	Esferográficos	2	0,25	0,5
	Calculadora	1	10	10
Reactivos	Hidróxido de sodio 0.01N x 1 litro	1	13,5	13,5
	Hidróxido de potasio 15% x 1 litro	1	135	135
	Ácido sulfúrico 0.01N X 1 litro	1	18	18
	Rojo de metilo x 1 litro	1	32	32
	Óxido de aluminio básico	1	55	55
Materiales de laboratorio	Embudos	6	0,66	4,5
	Envases de plástico	9	0,75	6,75
Sub total				760,25
Imprevistos 10%				32
Total				792,25

17. CONCLUSIONES

La valoración cuantitativa detectó una presencia de alcaloides en las 27 unidades experimentales, para la identificación se aplicó el reactivo de Mayer a distintas dosis (0,5mL; 0,7mL; 1,0mL) resultando un color crema. La cuantificación de las quinolizidinas en el efluente desamargado del *Lupinus mutabilis* Sweet, estableció un precipitado máximo de 87,60% en dos tratamientos (T1-120-XXX, T2-120-XXXX) y una mínima de 80,16% para T1-90-XV, resaltando la influencia del agitador a 120 rpm durante un período de 30 minutos. Estos resultados contrastados con las significancias estadísticas (nivel de confianza 95%) para los tratamientos A, B y C, permitieron determinar una elevada eficiencia al remover alcaloides en un rango mayor al 70%, corroborando la aceptación de la hipótesis alternativa ($H_1: \bar{X} > 70\%$).

El análisis de los efectos principales sobre el porcentaje de alcaloides obtenido (Medias ajustadas), establecieron las condiciones adecuadas para una mayor eficiencia de precipitación, que consisten en la aplicación de 0,7 mL, 30 minutos y 120 revoluciones por minuto (RPM), para los factores: concentración de reactivo de Mayer, tiempo de agitación y velocidad de agitación RPM, respectivamente. Por lo tanto, se comprobó una influencia directa de los factores tiempo y velocidad de agitación sobre la extracción de alcaloides.

El efluente proveniente del proceso de desamargado de *L. mutabilis Sweet*, tiene una aplicación potencial en áreas como la agricultura, debido a sus propiedades biocidas que sirven como defensa ante el ataque de insectos, herbívoros y microorganismos. Asimismo, es viable el uso a escala nutracéutica, por la eficiencia del alcaloide Gamma-conglutin al reducir niveles elevados de glucosa en pacientes con disglucemia o Diabetes tipo-2.

18. RECOMENDACIONES

Controlar el experimento de acuerdo a factores incidentes en la extracción de alcaloides, considerando réplicas de los tratamientos para reducir el error experimental y aumentar los grados de libertad. Además, contemplar los reactivos (viabilidad económica), equipos y materiales necesarios para llevar una correcta aplicación en laboratorio.

La investigación del extracto de alcaloides de *Lupinus mutabilis* Sweet es muy amplia, hay que redoblar esfuerzos para la determinación de los efectos toxicológicos producidos por los efluentes del desamargado que se vierten sin control a cuerpos de agua. Por otro lado, se debe profundizar en estudios sobre la reutilización de los alcaloides como pesticidas o insecticidas, incluso, como fármacos medicinales.

Enviar analizar el agua de desamargado del *Lupinus Mutabilis Sweet*, para obtener

resultados y comparar con los criterios de calidad de aguas para uso agrícola según el acuerdo ministerial 097 a, anexo 1 del texto unificado de legislación secundaria del ministerio del ambiente (TULSMA).

19. BIBLIOGRAFÍA

- Acuña, O., & Caiza, J. (2010). Obtención de hidrolizado enzimático de proteína de chocho (*lupinus mutabilis*) a partir de harina integral. *Revista Politécnica*, 29(1), 70-77.
- Agarwal, A., Kumar, A., Singh, B., Trivedi, N., & Jha, K. (2016). A review on extraction and phytochemical screening methods. *Research in Pharmacy and Health Sciences*, 2, 130-137. <https://doi.org/10.32463/rphs.2016.v02i02.25>
- Aguilar Reyes, C. A. (2021). *Optimización del proceso de extracción de alcaloides del Lupinus mutabilis (Tarwi) mediante el método superficie de respuesta* [Universidad Nacional de Trujillo]. <https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/16812/AGUILAR%20REYES%2c%20CLIVES%20ALEXANDER.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Allauca Chávez, V. (2005). *Desarrollo de la tecnología de elaboración de chocho (Lupinus mutabilis Sweet) germinado fresco para aumentar el valor nutritivo del grano* [Riobamba, EC: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia, 2005. 243 p.]. <http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/1424>
- Apaza Castro, C., & Calienes Salazar, J. (2016). *Extracción y caracterización del alcaloide tropánico Datura Ferox*.
- Arango Acosta, G. J. A. (2008). *Alcaloides y compuestos nitrogenados* (Facultad de Química Farmacéutica). Universidad de Antioquia. <http://dica.minec.gob.sv/inventa/attachments/article/856/alcaloides.pdf>
- Arias Alemán, L. S. E. A., Ulloa Ramones, L. A. U., Rojas Oviedo, L. A. R., & Noboa Abdo, T. E. N. (2019). Efecto de los alcaloides del lupinus mutabilis sweet sobre los parásitos gastrointestinal en cuyes. *Ciencia Digital*, 3(3.1), 221-228. <https://doi.org/10.33262/cienciadigital.v3i3.1.692>

- Arteaga Sáenz, P. M., & Silva Rufino, A. L. (2015). *Sustitucion parcial de la harina de trigo (Triticum Aestivum) por harina de tarwi (Lupinus mutabilis Sweet) y harina de cascara de maracuya (Passiflora Edulis) en las características fisicoquímicas y sensoriales de cupcakes* [Universidad Nacional del Santa]. <https://core.ac.uk/reader/225484928>
- Aviles, M., & Flores, R. (2017). Validación del efecto fitoterápico de un medicamento en base a extractos vegetales de lupinus/aloe (regumetacel) para el tratamiento de la diabetes tipo 11, artritis reumática, artrosis, y gastritis. Sucre 2006—2015. *Revista Ciencia, Tecnología e Innovación*, 15(16), 933-948.
- Barrera, C. A. C., Parra, J., & Suarez, L. E. C. (2014). Caracterización química del aceite esencial e identificación preliminar de metabolitos secundarios en hojas de la especie raputia heptaphylla (rutaceae). *Elementos*, 4(4), 31-39.
- Bruneton, J. (2001). *Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas medicinales* (2.^a ed.). Editorial Acribia, S.A. https://www.editorialacribia.com/libro/farmacognosia-fitoquimica-plantas-medicinales_54366/, https://www.editorialacribia.com/libro/farmacognosia-fitoquimica-plantas-medicinales_54366/
- Bucay Morocho, L. C. (2010). *Estudio Farmacognóstico y Actividad Antimicrobiana de la Violetilla (Hybanthus parviflorus)* [Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/207>
- Cacoango Cacoango, G. B. (2012). *Utilización de la Harina de Chocho en Preparaciones Gastronómicas* [Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/9531>
- Caicedo V., C., Murillo I., A., Pinzón Z., J., Peralta I., E., & Rivera M., M. (2010). INIAP-450 Andino: Variedad de chocho (Lupinus mutabilis Sweet). *Iniap*, 5.

- Caicedo V., C., & Peralta I., E. (2000). *Zonificación potencial, sistemas de producción y procesamiento artesanal del chocho (Lupinus mutabilis Sweet) en Ecuador*.
<http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/441>
- Caiza Ayala, J. E. C. (2011). *Obtención de hidrolizado enzimático de proteína de chocho (Lupinus mutabilis) a partir de harina integral* [Experimental, Escuela Politécnica Nacional].
<https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/4387/1/CD-3992.pdf>
- Camacho Saavedra, L., & Uribe Uribe, L. (1995). Intoxicación por agua de *Lupinus mutabilis* («Chocho»). *Boletín Sociedad Peruana de Medicina Interna*, 8(3-4), 35-37. <https://sisbib.unmsm.edu.pe/Bvrevistas/spmi/v08n3-4/pdf/a09.pdf>.
- Camarena, F. (2020). *El cultivo del tarwi. Programa de leguminosas de Grano*. Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Carvajal-Larenas, F. E., Nout, M. J. R., Boekel, M. A. J. S. van, Koziol, M., & Linnemann, A. R. (2013). Modelling of the aqueous debittering process of *Lupinus mutabilis* Sweet. *LWT - Food Science and Technology*, 2(53), 507-516.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.03.017>
- Chávez Gonzáles, L. M., & Gutiérrez Condori, D. A. (2013). *Estudio fitoquímico y evaluación de la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., 'Palma real'* [Experimental, Universidad Wiener].
<http://repositorio.uwiener.edu.pe/xmlui/bitstream/handle/123456789/52/014%20EAP%20FARMACIA%20Y%20BIOQUIMICA%20%20ESTUDIO%20FITOQUIMICO%20PALMERA%20REAL%20%28%20CHAVEZ%20y%20GUTIERREZ%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Cheeke, P. R. (1989). *Toxicants of Plant Origin: Alkaloids*. CRC Press.

- Constitución de la República del Ecuador. (2008). *Registro Oficial 449 de 20 de octubre de 2008*. https://www.defensa.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2021/02/Constitucion-de-la-Republica-del-Ecuador_act_ene-2021.pdf
- Del Salto, P. (2019). *El chocho: Patrimonio alimentario ecuatoriano y la universalidad de su uso* [Universidad Técnica de Ambato]. <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/30200/1/DEL%20SALTO%20PAULETHE%20EL%20CHOCHO%20PATRIMONIO%20ALIMENTARIO%20ECUATORIANO%20Y%20LA%20UNIVERSALIDAD%20DE%20SU%20USO.pdf>
- Espejo, L. (2017). “*Desarrollo del proceso común de desamargado de Lupinus Mutabilis (Tarwi) en condiciones controladas físicas y químicas*” [Universidad Mayor de San Andrés]. <https://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/18188/M-307.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Fernández Cheza, E. E. F. (2017). *Determinación del contenido de antinutrientes en tres variedades de chocho (Andino INIAP 450, Guaranguito INIAP 451 y Criollo)*. Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- Ganzer, 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>
- Gennaro, A. R. (2003). *Remington. Farmacia (20ª)*. Editorial Médica Panamericana S.A. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/libro?codigo=310437>
- Gross, R., Koch, F., Malaga, I., de Miranda, A. F., Schoeneberger, H., & Trugo, L. C.

- (1989). Chemical composition and protein quality of some local Andean food sources. *Food Chemistry*, 34(1), 25-34. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(89\)90030-7](https://doi.org/10.1016/0308-8146(89)90030-7)
- Guamán Guamán, A. L. (2010). “*Aislamiento de Alcaloides de 5 Especies Alucinógenas de la Familia Lycopodiaceae Usadas en Medicina Ancestral por los Rikuyhampiyachak (visionarios) de la Etnia Saraguro – Ecuador*” [Experimental, UNIVERSIDAD TECNICA PARTICULAR DE LOJA]. <http://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/1840/3/Guam%C3%A1n%20Guam%C3%A1n%20Ana%20Luc%C3%ADa.pdf>
- Guapi Cando, J. M. (2014). *Caracterización bromatológica y fotoquímica de los granos y hojas del chocho (Lupinus mutabilis Sweet), quinua (Chenopodium quinoa Willd), amaranto (Amaranthus caudatus L.) Y sangor ache (Amaranthus hybridus L.)* [Universidad Nacional de Chimborazo]. <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/689>
- Guerrero, M. (1987). *Alcaloides del Chocho, Lupinus mutabilis Sweet* (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt), Escuela Politécnica Nacional (EPN), Instituto de Investigaciones Tecnológicas (IIT)).
- Gutiérrez, A., Infantes, M., & Cruces, L. (2016). Evaluación del efecto insecticida de las aguas residuales de tarwi (*Lupinus mutabilis*) sobre larvas de *Spodoptera eridania* (Lep.: Noctuidae) bajo condiciones de laboratorio. *Agroindustrial Science*, 6(1), 151-153.
- Gutiérrez, A., Infantes, M., Pascual, G., & Zamora, J. (2016). Evaluación de los factores en el desamargado de tarwi (*Lupinus mutabilis Sweet*). *Agroindustrial Science*, 6(1), 145-149. <https://doi.org/10.17268/agroind.science.2016.01.17>
- Hernández Bermejo, J. E., & León, J. (1992). *Cultivos marginados otra perspectiva de*

1492. FAO. <http://www.fao.org/3/t0646s/t0646s.pdf>

Huamán Torrejón, H., & Choccare Huisa, A. (2017). *TRATAMIENTO DEL AGUA RESIDUAL DEL DESAMARGADO DEL TARWI (lupinus mutabilis) MEDIANTE RESINAS DE INTERCAMBIO IÓNICO* [UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO].
http://repositorio.unac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12952/3182/Huaman%20Torrejon%20y%20Choccare%20Huisa_Tesis%20Preg_2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Huertas Borja, C. A., & Sandoval Pachacama, G. F. (2018). *Evaluación del Método de extracción de Alcaloides de las hojas del Chocho (lupinus mutabilis sweet) y su implementación para la elaboración de un gel antibacteriano de uso Aséptico* [Universidad Técnica de Cotopaxi].
<http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/5128>

Jacobsen, S.-E. (2002). *Cultivo de granos andinos en Ecuador: Informe sobre los rubros quinua, chocho y amaranto*. Editorial Abya Yala.

Jacobsen, S.-E., & Mujica, A. (2006). El tarwi (*Lupinus mutabilis Sweet.*) y sus parientes silvestres. En *Botánica Económica de los Andes Centrales* (M. Moraes R., B. Øllgaard, L. P. Kvist, F. Borchsenius & H. Balslev, pp. 458-482). Universidad Mayor de San Andrés.
<https://beisa.au.dk/Publications/BEISA%20Book%20pdfer/Capitulo%2028.pdf>

Jarrín Haro, M. P., Abdo López, S., Donoso Fernández, C. R., & Lucero Redrobán, O. P. (2003). *Tratamiento del Agua de Desamargado de Chocho (Lupinus mutabilis sweet), proveniente de la Planta Piloto de la Estación Santa Catalina INIAP*. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
<https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/353/1/iniapsctJ37t.pdf>

- Ley Orgánica de Recursos Hídricos, Usos y Aprovechamiento del Agua. (2014). *Registro Oficial Suplemento 305 del 06 agosto de 2014*. <http://www.regulacionagua.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2016/03/Ley-Org%C3%A1nica-de-Recursos-H%C3%ADricos-Usos-y-Aprovechamiento-del-Agua.pdf>
- Llamba Chicaiza, E. G., & López Ibarra, W. I. (2020). “Estado del arte de la caracterización de efluentes residuales del proceso de desamargado del *Lupinus mutabilis* Sweet y su propuesta metodológica” [Documental, Universidad Técnica de Cotopaxi]. <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/7107/1/PC-001037.pdf>
- Lock de Ugaz, O. (1994). *Investigación Fitoquímica. Métodos de estudio de productos naturales*. (2.^a ed.). Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú.
- Lombardo, M. C. M., & Ortiz, A. C. (2009). Plantas medicinales con alcaloides en la provincia de Jaén. *Boletín del Instituto de Estudios Giennenses*, 200, 125-163.
- Márquez, C. (2020, julio 15). 600 familias productoras de chochos lograron una certificación de buenas prácticas agrícolas en esta pandemia. *El Comercio*. <https://www.elcomercio.com/actualidad/ecuador/chocho-union-familias-chimborazo-comercializacion.html>
- Martínez Correa, K. A., & Acosta Quiñonez, R. Y. (2020). “Extracción de alcaloides presentes en las semillas de *lupinus mutabilis* y su actividad antibacteriana” [Thesis, Universidad Santiago de Cali]. En *Repositorio Institucional USC*. <https://repository.usc.edu.co/handle/20.500.12421/3560>
- Mazza, G. (2000). *Alimentos funcionales: Aspectos bioquímicos y de procesos* (N.º 1 edición). Editorial Acribia, S.A.

<https://dialnet.unirioja.es/servlet/libro?codigo=5370>

Mitjavila, J. (1990). Sustancias naturales nocivas en los alimentos. En *Toxicología y seguridad de los alimentos*. Derache, J. Omega.

Muñoz, E. B., Luna-Vital, D. A., Fornasini, M., Baldeón, M. E., & Gonzalez de Mejia, E. (2018). Gamma-conglutin peptides from Andean lupin legume (*Lupinus mutabilis* Sweet) enhanced glucose uptake and reduced gluconeogenesis in vitro. *Journal of Functional Foods*, 45, 339-347.
<https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.04.021>

National Research Council. (1989). *Lost Crops of the Incas: Little-Known Plants of the Andes with Promise for Worldwide Cultivation*. The National Academies Press.
<https://doi.org/10.17226/1398>

NTE INEN 2 390:2004. (2004). *Leguminosas. Grano desamargado de chocho. Requisitos*. <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/2390.pdf>

NTE INEN 2169:2013 (Primera revisión). (2013). *Agua. Calidad del agua. Muestreo. Manejo y conservación de muestras*. <https://www.trabajo.gob.ec/wp-content/uploads/2012/10/NTE-INEN-2169-AGUA.-CALIDAD-DEL-AGUA.-MUESTREO.-MANEJO-Y-CONSERVACION-DE-MUESTRAS.pdf?x42051>

NTE INEN 2176:2013 (Primera revisión). (2013). *Agua. Calidad del agua. Muestreo. Técnicas de muestreo*. <https://www.trabajo.gob.ec/wp-content/uploads/2012/10/NTE-INEN-2176-AGUA.-CALIDAD-DEL-AGUA.-MUESTREO.-TECNICAS-DE-MUESTREO.pdf?x42051>

Panta Rivera, A., & Zavaleta Bustamante, F. A. (2021). *Aplicación del Extracto Liofilizado de Chocho para Tratamiento de Cromo en Aguas Residuales de Curtiembre*.

https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/17873/Tesis%20Panta%20Rivera%2c%20Zavaleta%20Bustamante_protegido.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Quishpe Quishpe, S. M. (2020). *Caracterización fisiológica y física del recubrimiento órgano-mineral de la semilla de chocho (lupinus mutabilis sweet) utilizando tres tipos de polímeros*. [Universidad Técnica de Cotopaxi]. <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/6639>

Quitio Amangandi, E. D., & Solórzano Bonoso, S. J. (2020). *Estudio bibliográfico de tres tipos de desamargado (tradicional, fermentación y germinación) en diferentes índices de madurez de Chocho (lupinus mutabilis sweet) en dos variedades (andino iniap 450 y guaranguito iniap 451) para determinar su eficacia*. [Universidad Técnica de Cotopaxi]. <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/7007>

Resta, D., Boschini, G., D'Agostina, A., & Arnoldi, A. (2008). Quantification of quinolizidine alkaloids in lupin seeds, lupin-based ingredients and foods. *International Lupin Association -Proceedings of the 12 th International Lupin Conference, 14-18 Sept. 2008, 533-535*. https://www.academia.edu/13463398/Quantification_of_quinolizidine_alkaloids_in_lupin_seeds_lupin_based_ingredients_and_foods

Rodríguez Basantes, A. I. R. (2009). *“Evaluación «in vitro» de la actividad antibacteriana de los alcaloides del agua de desamargado del chocho (lupinus mutabilis sweet) ”* [Experimental, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. https://docs.bvsalud.org/biblioref/2019/05/996381/evaluacion-in-vitro-de-la-actividad-antibacteriana-de-los-alcal_salyY8M.pdf

Schoeneberger, H., Gross, R., Cremer, H., & Elmadfa, I. (1982). Composition and

- Protein Quality of *Lupinus Mutabilis*. *The Journal of nutrition*, 112, 70-76.
<https://doi.org/10.1093/jn/112.1.70>
- Seguil Mirones, C., Egas Peña, E., Avilez Hinostrroza, J., Blas Buendía, C., & Huamanlazo Zurita, M. (2019). Evaluación de la extracción de alcaloides de la semilla de tarwi (*Lupinus mutabilis*), por microondas, ultrasonido y convencional. *Journal of Agri-food Science*, 1(1), 37-46.
- Suca, G. R., & Suca, C. A. (2015). Potencial del tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) como futura fuente proteínica y avances de su desarrollo agroindustrial. *Revista Peruana de Química e Ingeniería Química*, 18(2), 55-71.
- Suquilanda, F. (s. f.). *Producción orgánica de cultivos andinos*. 199.
- Tapia, M. E. (1997). *Cultivos andinos subexplotados y su aporte a la alimentación*. FAO-Oficina Regional de la FAO para América Latina y Caribe.
- Tapia, M. E. (2015). *El tarwi, lupino andino*. Corporación Gráfica Universal SAC.
<http://fadvamerica.org/wp-content/uploads/2017/04/TARWI-espanol.pdf>
- Uauy, R., Albala, C., & Kain, J. (2001). Obesity trends in Latin America: Transiting from under- to overweight. *The Journal of Nutrition*, 131(3), 893S-899S.
<https://doi.org/10.1093/jn/131.3.893S>
- Villacrés, E., Peralta, E., Cuadrado, L., Revelo, J., Abdo, S., & Aldaz, R. (2009). *Propiedades Y Aplicaciones De Los Alcaloides Del Chocho* (INIAP-ESPOCH-SENACYT). Grafistas.
<https://books.google.com.ec/books?id=V3ozAQAAMAAJ&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>
- Villacrés, E., Rubio, A., Egas, L., & Segovia, G. (2006, junio). Usos alternativos del chocho. *Proyecto PFN - 03 - 060 - Fundacyt - Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP)*, 333, 19.

Zamora-Natera, F., García-López, P., Ruiz-López, M., & Salcedo-Pérez, E. (2008, marzo). Composición de alcaloides en semillas de *Lupinus mexicanus* (Fabaceae) y evaluación antifúngica y alelopática del extracto alcaloideo. *Agrociencia*, 42(núm. 2), 185-192.

20. ANEXOS

Anexo 1. Clasificación de los alcaloides

Tabla 14

Clasificación de los alcaloides

Nº	GRUPO O FAMILIA	ALCALOIDES	CARACTERÍSTICAS
1	Alcaloides derivados de ornitina y lisina	Tropánicos	Poseen una estructura bicíclica hidroxilada esterificada con ácidos orgánicos, que se origina por la condensación de un anillo pirrolidínico y otro piperidínico, compartiendo dos átomos de carbono.
		Quinolizidínicos	Se forman a partir del aminoácido lisina. Su biosíntesis tiene origen en las partes aéreas de las fabáceas.
		Piridinícos	Entre los alcaloides más representativos están la nicotina y la anabasina del tabaco.
		Piperidínicos	Son alcaloides derivados de la lisina. Algunos tienen interés farmacéutico limitado, como la lobelina; otros, como los presentes en la corteza del granado, son responsables de la actividad antihelmíntica; y otras, como el pimiento utilizado en condimentos.
2	Alcaloides derivados de fenilalanina y tirosina	Feniletílamínicos	Se caracterizan porque su nitrógeno no forma parte de un heterociclo. En este grupo se encuentra la efedrina de las sumidades de efedra, la mezcalina del peyote con propiedades alucinógenas.
		Derivados de la tropona	La colchicina es un alcaloide particular, muy soluble en agua y soluble en alcohol y cloroformo, por lo que estas propiedades se utilizan para su extracción. Se extrae a partir del cólchico. Se utilizan las semillas maduras y secas. Es usado como base del tratamiento de la gota.

		Es el grupo más complejo. Se encuentran generalmente en forma de tetrahydroderivados, aunque el alcaloide más relevante es la papaverina, que es aislado de las adormideras (<i>Papaver somniferum</i>).
	Bencilisoquinoleínicos	
	Derivados de la aporfina	Es un grupo extenso de alcaloides, pero de poca relevancia farmacológica. De este grupo se pueden destacar la boldina (alcaloide colagogo y colerético procedente del boldo) y la apomorfina (un derivado semisintético)
	Derivados del morfinano	Es considerado el analgésico por excelencia empleado en enfermedades terminales, como el cáncer, pero induce dependencia física y psíquica, y síndrome de abstinencia.
	Bisbencilisoquinoleínicos	Entre ellos se encuentran los alcaloides de los curares, como la tubocurarina. Son extractos complejos, constituidos por especies vegetales diversas y dotadas de actividad relajante muscular
	Isoquinolein-monoterpénicos	Están representados específicamente por los alcaloides de las ipecacuanas <i>Cephaelis</i> sp. Los principales alcaloides de este grupo son la emetina y la cefelina, que poseen propiedades eméticas y antidisentéricas.
3	β -carbolina	Biogenéticamente formados por condensación de un aldehído o cetoácido con la triptamina.
	Alcaloides derivados del triptófano	Como la fisostigmina del haba del Calabar <i>Physostigma venenosum</i> es un inhibidor de la colinesterasa, permitiendo un efecto colinérgico más duradero.
	Derivados de la ciclación de la triptamina	
	Derivados de la ergolina	Se encuentran en el esclerocio de los hongos de la familia <i>Clavicipitaceae</i> , los cuales contaminan el centeno, el trigo y otras gramíneas, y son los causantes de intoxicaciones denominadas “fuego sagrado” o

			ergotismo. En este grupo se encuentran los alcaloides ergotamina y ergometrina.
			Este grupo es amplio y en él se encuentran estructuras químicas muy diversas, como la estricnina, que es un alcaloide muy tóxico, con actividad estimulante
		Indolmonoterpénicos	medular y procedente de la nuez vómica (<i>Strychnos nux-vomica</i>); o la reserpina, alcaloide antihipertensivo aislado de la rauwolfia (<i>Rauwolfia sp.</i>)
			Están representados por los alcaloides de Cinchona, que poseen un núcleo de quinoleína en vez de indol. Son los estereoisómeros quinidina y quinina, con acción antimalárica. Presentan actividad parasimpaticomimética. Son biosintetizados a partir de la histidina, y se emplean principalmente en forma de colirio en el tratamiento del glaucoma. La pilocarpina pertenece a este grupo.
		Quinoleínicos	
4	Alcaloides derivados de la histidina	Imidazólicos	
			El ácido antranílico da origen a alcaloides variados, como quinolina, acridina y quinazolina. Es formado, ya sea a partir del ácido chorísmico, o como un producto de degradación del triptófano. Estos alcaloides con frecuencia están representados en la familia de las rutáceas.
5	Alcaloides derivados del ácido antranílico		
			La mayoría de estos alcaloides se caracterizan por su elevada toxicidad y complejidad estructural. Pueden constar de 19 a 20 átomos de carbono, por lo que se habla de norditerpenos o de diterpenos. Se encuentran principalmente en especies de las ranunculáceas.
6	Alcaloides derivados del metabolismo terpénico	Diterpénicos	
			Se caracterizan por presentar un núcleo ciclopentanofenantreno. Son derivados del
		Esteroidales	

7	Otros alcaloides	Bases xánticas	<p>pregnano, donde el nitrógeno puede ser intra- o extracíclico. Pueden constar de 21, 24 o 27 átomos de carbono.</p> <p>Derivan del anillo de la purina, formado por condensación de una pirimidina con un imidazol. Las bases púricas con mayor interés, por su utilización en terapéutica, son la cafeína, la teofilina y la teobromina. Presentan características especiales: su comportamiento como anfóteros o el hecho de ser solubles en agua caliente.</p>
---	---------------------	----------------	---

Elaborado por: Bastidas, Ximena.

Fuente: (Chávez & Gutiérrez, 2013).