

## EFFECTO DE LA POTENCIA DE EXTRACCIÓN ASISTIDA POR MICROONDAS DE LOS ALCALOIDES ESPARTEÍNA, LUPANINA, NUTTALINA Y 13AHIDROXILUPANINA DEL TARWI

### EFFECT OF THE MICROWAVE-ASSISTED EXTRACTION POWER OF THE ALKALOIDS SPARTEINE, LUPANIN, NUTTALIN AND 13AHYDROXYLUPANIN FROM TARWI

Carlos Guillermo Seguil Mirones<sup>a\*</sup>, Enma Elea Egas Peña<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias, Universidad Nacional del Centro del Perú – Huancayo, Perú

<sup>b</sup> Investigadora independiente

\*Autor correspondiente: [cseguil@uncp.edu.pe](mailto:cseguil@uncp.edu.pe).

#### RESUMEN

El trabajo de investigación evaluó el efecto de las potencias de extracción: 200 W, 400 W y 600 W asistido por microondas de los alcaloides esparteína, lupanina, nuttalina y 13 $\alpha$ hidroxilupanina del tarwi. Las extracciones se realizaron con una solución acuosa de etanol al 80 %, tamaño de partícula 0,149 mm <  $\phi$  < 0,177 mm y por 5 minutos. Se aplicó el diseño completamente al azar (DCA) con un nivel de significancia del 5 %. Para la identificación y cuantificación de alcaloides de quinolizidina se realizó cromatografía de gases con espectrometría de masas (GC – MS). El tarwi tiene inicialmente 112,02  $\pm$  5,53 mg de esparteína / 100 g de harina; 764,14  $\pm$  31,81 mg de lupanina / 100 g de harina; 156,38  $\pm$  11,39 mg de nuttalina / 100 g de harina y 213,83  $\pm$  12,65 mg de 13 $\alpha$ hidroxilupanina / 100 g de harina. Los resultados muestran que existen diferencias significativas entre las potencias de extracción conforme la potencia se incrementa el nivel de extracción de los alcaloides totales aumenta, para 600 W se obtuvo 0; 7,41; 1,92 y 0 mg de esparteína, lupanina, nuttalina y 13 $\alpha$ hidroxilupanina mg de alcaloides residuales / 100 g de torta de tarwi, significativamente diferente según Tukey al 5 % para el caso de lupanina y 13 $\alpha$ hidroxilupanina y no hay diferencia significativa en la extracción de la esparteína y nuttalina para las potencias de 400 y 600 W.

**Frases claves:** Alcaloides quinolizidínicos, extracción asistida por microondas, potencia de extracción

#### ABSTRACT

The research work evaluated the effect of the extraction powers: 200 W, 400 W and 600 W assisted by microwaves of the alkaloids sparteine, lupanin, nuttalin and 13 $\alpha$ hydroxylupanin from tarwi. The extractions were carried out with an aqueous solution of ethanol at 80 %, particle size 0.149 mm <  $\phi$  < 0.177 mm and for 5 minutes. The completely randomized design (DCA) was applied with a significance level of 5 %. For the identification and quantification of quinolizidine alkaloids, gas chromatography with mass spectrometry (GC-MS) was performed. Tarwi has 112.02  $\pm$  5.53 mg of sparteine / 100 g of flour, 764.14  $\pm$  31.81 mg of lupanin / 100 g of flour, 156.38  $\pm$  11.39 mg of nuttalin / 100 g of flour and 213.83  $\pm$  12.65 mg of 13 $\alpha$ hydroxylupanin / 100 g of flour. The results show that there are significant differences between the extraction powers as the power increases the extraction level of the total alkaloids increases, for 600 W was obtained 0, 7.41, 1.92 and 0 mg of sparteine, lupanin, nuttalin and 13 $\alpha$ hydroxylupanin mg of residual alkaloids / 100 g of tarwi cake, significantly different according to Tukey at 5% for the case of lupanin and 13 $\alpha$ hydroxylupanin and there is no significant difference in the extraction of sparteine and nuttalin for the powers of 400 and 600 W.

**Key phrases:** Quinolizidine alkaloids, microwave-assisted extraction, extraction power.

## 1. INTRODUCCIÓN

La humanidad ha tenido la preocupación de extraer los componentes que se encuentran en las matrices naturales, por lo que se ha recurrido a diferentes métodos tradicionales como la digestión, la lixiviación, percolación, etc. Para el siglo XX, estas técnicas han sido reemplazadas por otras conocidas como amigables con el ambiente, incrementando la eficiencia, selectividad y reducción de costos entre ellas tenemos: extracción asistida por microondas, por ultrasonido, dióxido de carbono supercrítico, agua supercrítica, etc. (Khoddami *et al.*, 2013), el fundamento de la extracción está relacionada con la transferencia selectiva del bioactivo a través del solvente orgánico que debe ser compatible con el bioactivo en términos de solubilidad, lo que no permitirá la extracción de otros componentes que no son de interés (Angurel *et al.*, s.f.).

En la extracción asistida por microondas (EAM), se calienta el solvente (extractor) que se encuentra en contacto con la muestra, esto se da por la capacidad de un campo eléctrico para polarizar las cargas en el solvente y la incapacidad para alinearse a las inversiones del campo eléctrico (Míngos y Baghurst, 1991), los solventes más utilizados para la extracción de bioactivos son: agua, etanol, acetona, metanol, isopropanol y acetonitrilo (Khoddami *et al.*, 2013). La EAM utiliza la capacidad de algunos líquidos y sólidos para transformar la energía electromagnética en calor, lo que lleva a un calentamiento efectivo que puede incrementar la velocidad de reacción o extracción en condiciones hidrotermales y, en ocasiones, mejorar la selectividad de los compuestos objetivo. El principio de calentamiento se da por conducción iónica y rotación de dipolo que genera un efecto directo de las microondas en las moléculas. Estos dos mecanismos tienen lugar simultáneamente. Al aplicar un campo magnético genera la migración electroforética de iones produciéndose la conducción iónica. La solución genera resistencia a este flujo de iones, produciéndose la fricción y, por lo tanto, el aumento de temperatura de la solución. La rotación del dipolo significa la realineación de los dipolos con el campo aplicado. A 2 450 MHz, que es la frecuencia utilizada en los sistemas comerciales, los dipolos se alinean y aleatorizan  $4,9 \times 10^9$  veces por segundo, y este movimiento molecular forzado resulta en calentamiento (Quitain *et al.*, 2017). Este fenómeno de calentamiento como consecuencia a la rotación del dipolo y la conducción producida por los iones que pueden estar presentes en el solvente y soluto, son los responsables del aumento del rendimiento de extracción asistida por microondas (EAM) (Lovrić *et al.*, 2017), por una mayor

extracción de los biocomponentes, debido a un incremento del ingreso del solvente en la matriz, generado por la ruptura de los enlaces de hidrógeno y permitiendo la disolución de los componentes (Zhu *et al.*, 2006; Jain *et al.*, 2009; Routray y Orsat, 2011). Las ventajas que presenta este tipo de extracción si se compara con otros métodos convencionales, no depende de la conductividad térmica del material del recipiente, obteniéndose un calentamiento instantáneo y localizado (Strauss, 2002; Aradilla *et al.*, 2009), como consecuencia se logra tiempos cortos de extracción, altos rendimientos, poco uso de reactivos y manipulación mínima de la muestra (Elez *et al.*, 2013).

Los alcaloides se localizan en los tejidos periféricos en los diferentes órganos de la planta, es decir las capas externas de los frutos, semillas, raíces, epidermis de las hojas y corteza del tallo; debido al sabor astringente y amargo, los alcaloides cumplen diferentes funciones en la planta, la más importante posiblemente sea la de protección del ataque de microorganismos e insectos (Lara, 1999).

El tarwi es una leguminosa, que se utiliza para la alimentación humana y animal, en América del Sur la especie *Lupinus mutabilis* contiene nutrientes en cantidad interesante; alto contenido en grasa hasta 25 % en las semillas (Torres-Tello, 1976), aceite comestible que podría extraerse; proteínas alrededor de 41 % muy semejante a la soya entre otros componentes nutritivos (Baer *et al.*, 1979); sin embargo la semilla almacena un alto contenido de alcaloides quinolizidínicos tóxicos, entre 3 a 5 % dependiendo del origen, que es necesario extraerlo, para aprovechar estas semillas (Hatzold *et al.*, 1983).

El objetivo general fue: Evaluar el efecto de la potencia de extracción asistida por microondas, en la cantidad residual de alcaloides de la semilla de tarwi y los objetivos específicos: Determinar la influencia de la potencia de extracción de alcaloides asistida por microondas, en la cantidad residual de esparteína de la semilla de tarwi. Relacionar la potencia en la extracción de alcaloides asistida por microondas, en la cantidad residual de lupanina de la semilla de tarwi. Establecer la relación de la potencia extracción de alcaloides asistida por microondas, en la cantidad residual de nuttalina de la semilla de tarwi. Verificar el resultado que existe entre la potencia de extracción de alcaloides asistida por microondas, en la cantidad residual de 13 $\alpha$ -hidroxilupanina de la semilla de tarwi.

La investigación, permitirá aportar al conocimiento científico sobre la eficiencia de la extracción asistida por

microondas de esparteína, lupanina, nuttalina y 13 $\alpha$ hidroxilupanina.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### *Lugar de ejecución*

El trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de química de alimentos de la Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional del Centro del Perú.

### *Materia prima*

Se utilizó tarwi (*Lupinus mutabilis*) sembrado y cosechado en la provincia de Jauja, distrito de Acolla, cosecha 2018.

**a. Preparación de la muestra**, las semillas de tarwi se sometieron a un secado hasta una humedad de 10 % en un secador de cabina a una temperatura de 50 °C, luego se realizó la reducción de tamaño de con un molino, para finalmente pasar por los tamices con la finalidad de obtener los tamaños de partícula requeridos ( $0,149 \text{ mm} < \phi < 0,177 \text{ mm}$ ), siguiendo la metodología propuesta por (Xiong et al., 2016).

**b. Extracción asistida por microondas**, se pesaron 1,5 g de las partículas de semillas de tarwi, se colocaron en cada vial de extracción del microondas, agregando posteriormente 20 mL de etanol al 80 % (v/v), para ser colocadas en el rotor y éste en la cámara de extracción del microondas, a las diferentes potencias (200 W, 400 W y 600 W) y tiempo de extracción (5 minutos), se realizaron tres ciclos para cada una de las interacciones (Xiong et al., 2016).

**c. Identificación y cuantificación de alcaloides de quinolizidina**, por el método de cromatografía de gases con espectrometría de masas (GC – MS), realizado en el laboratorio de cromatografía y espectrometría de la

Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, para lo cual se pesó 0,5 g de la muestra (harina de tarwi y tortas después de las extracciones), se añadió 8 mL de HCl J.T Baker 0,1N, se homogenizó

### **Material y equipos**

Sistema extractor por microondas ETHOS UP, potencia de microondas 2 x 950 W, frecuencia de microondas 2,45 GHz a 12,25 cm, con rotor FASTEX de 24 viales de vidrio descartables de 100 mL. Secador de cabina por convección de aire caliente. Destilador de agua. Materiales de vidrio. Micropipetas (50 – 100  $\mu$ L), (500 – 1 000  $\mu$ L). Tamizador MS TYLER con tamices (mallas: 100 y 80).

### *Métodos analíticos*

en vortex VW por 5 minutos; se filtró, se añadió 0,8 mL de NaOH J.T. Baker 10 M; se extrajo los alcaloides con 5 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> J.T. Baker, se añadió Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> Merck, se filtró y concentró a presión reducida IKA RV 10 hasta sequedad; luego se redisuelve con 1 mL de MeOH J.T. Baker; se filtra con filtro Millex-HV 0,45  $\mu$ m Merck Milipore a un vial Agilent de 2 mL y finalmente se analizó por GC –MS Agilent 6890, método propuesto por (Romeo et al., 2018; Boschini et al., 2008).

**Técnicas y procesamiento de datos**, se utilizó el diseño completamente al azar con tres potencias como tratamientos en la extracción d alcaloides de quinolizidina asistida por microondas, con nivel de significancia de 0,05. Se utilizó el paquete estadístico Minitab 17.

### 3. RESULTADOS

#### Contenido de alcaloides de quinolizidina en las semillas tarwi

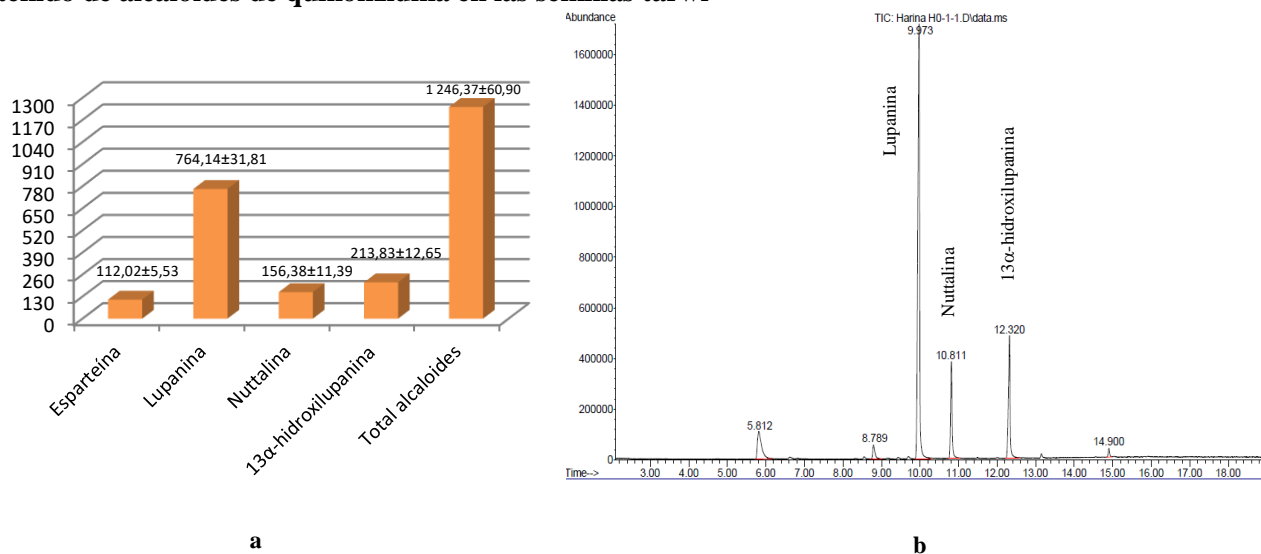


Figura 1. Alcaloides de quinolizidina presente en las semillas de tarwi (a) cantidad expresada en mg de alcaloides / 100 gramos de harina (b) perfil cromatográfico de alcaloides

#### Resultados del efecto de la extracción asistida a potencias de 200 W, 400 W y 600 W en los alcaloides de quinolizidina residuales.

Los resultados indican que existen diferencias significativas en la extracción de las diferentes fracciones de los alcaloides de quinolizidina presentes en el tarwi

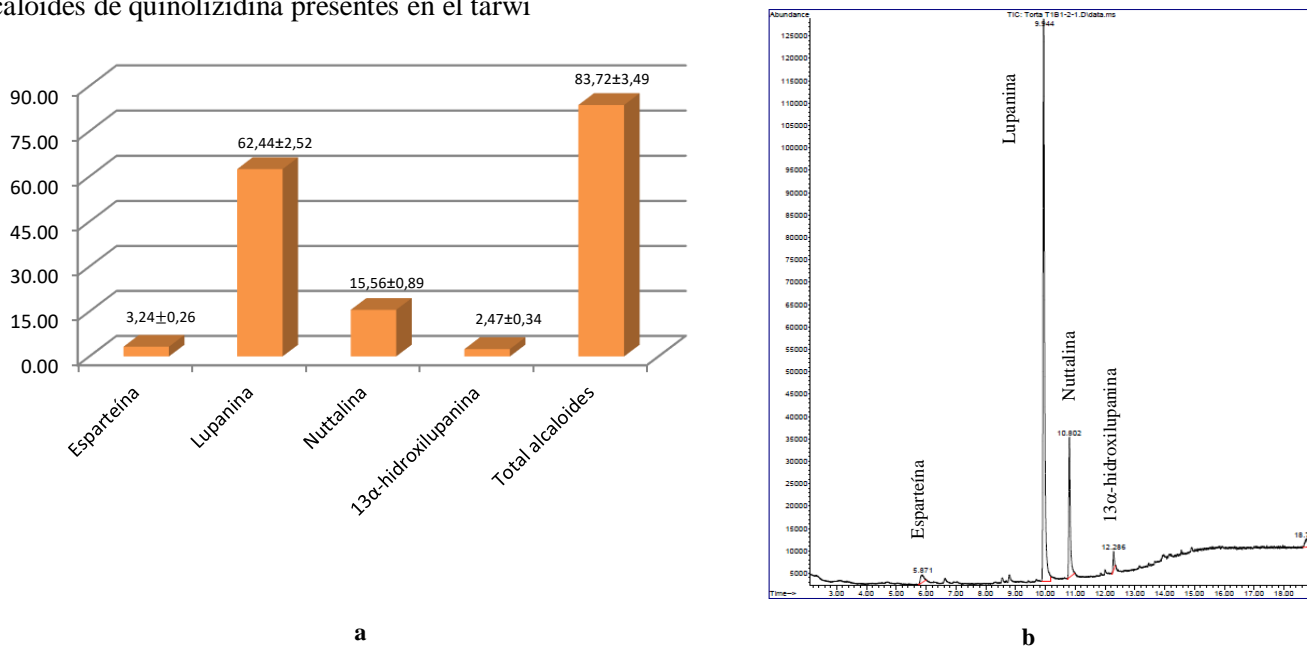
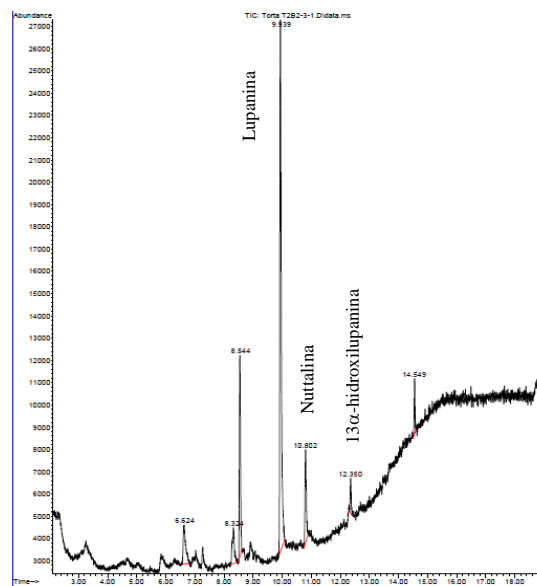
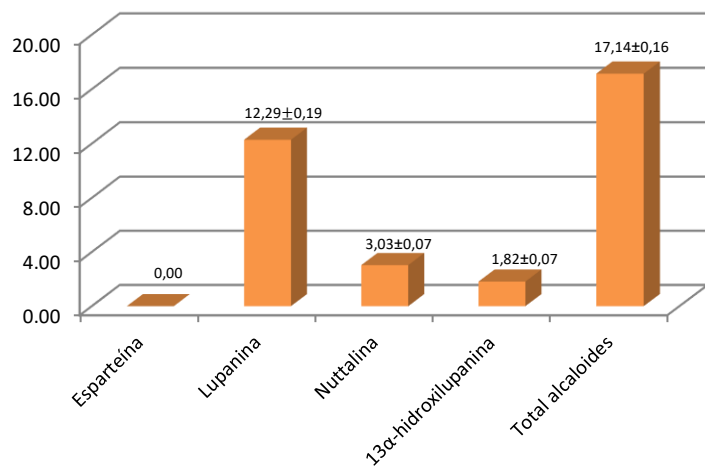


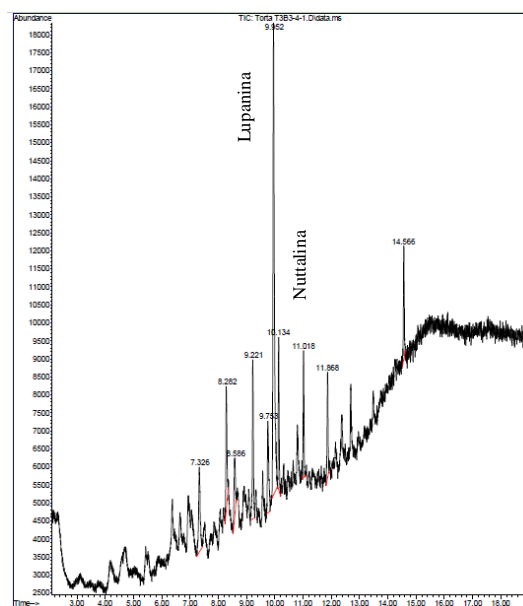
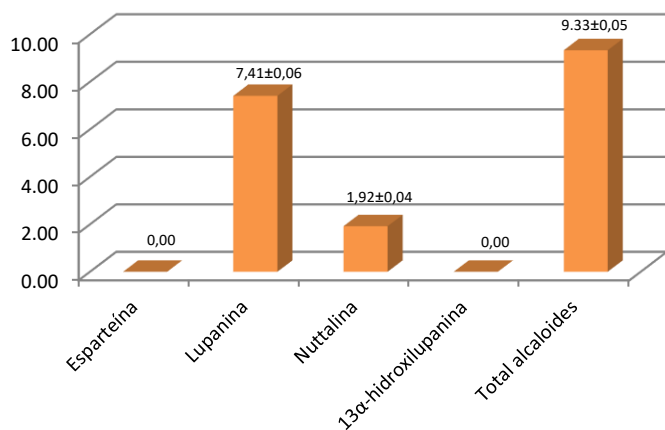
Figura 2. Alcaloides de quinolizidina residuales en la torta tarwi, después de la extracción a 200 W (a) cantidad expresada en mg de alcaloides / 100 gramos (b) perfil cromatográfico de alcaloides



**a**

**b**

Figura 3. Alcaloides de quinolizidina residuales en la torta tarwi, después de la extracción a 400 W (a) cantidad expresada en mg de alcaloides / 100 gramos (b) perfil cromatográfico de alcaloides



**a**

**b**

Figura 4. Alcaloides de quinolizidina residuales en la torta tarwi, después de la extracción a 600 W (a) cantidad expresada en mg de alcaloides / 100 gramos (b) perfil cromatográfico de alcaloides

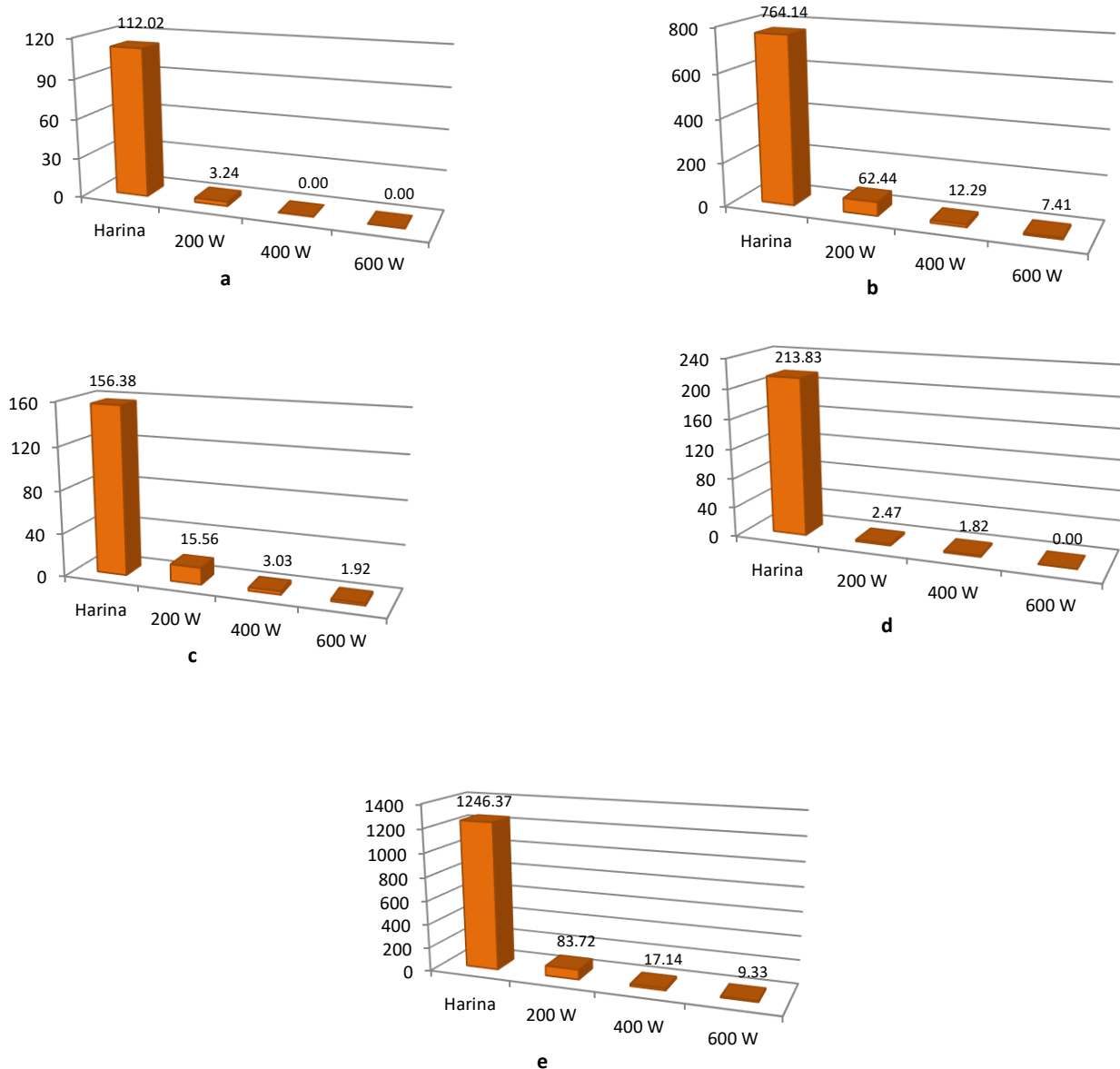


Figura 5. Alcaloides de quinolizidina residuales en la torta tarwi, expresada en mg de alcaloides / 100 gramos (a) esparteína (b) lupanina (c) nutalina (d) 13 $\alpha$ -hidroxilupanina (e) Alcaloides totales.

### b.1 Efecto en la extracción de esparteína

#### Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Bloques (repetición)	2	0.0448	0.0224	1.00	0.444
Tratamiento (potencia)	2	21.0384	10.5192	469.37	0.000
Error	4	0.0896	0.0224		
Total	8	21.1729			

#### Prueba de significancia de Tukey

Factor	N	Mean	Grouping
b1 (200w)	3	3.243	A
b3 (600w)	3	0.000000	B
b2 (400w)	3	0.000000	B

## **b.2 Efecto en la extracción de lupanina**

### **Analysis of Variance**

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Bloques (repetición)	2	4.73	2.36	1.18	0.396
Tratamiento (potencia)	2	5568.14	2784.07	1387.92	0.000
Error	4	8.02	2.01		
Total	8	5580.89			

### **Prueba de significancia de Tukey**

Factor	N	Mean	Grouping
b1 (200w)	3	62.44	A
b2 (400w)	3	12.287	B
b3 (600w)	3	7.4100	C

## **b.3 Efecto en la extracción de nutalina**

### **Analysis of Variance**

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Bloques (repetición)	2	0.461	0.230	0.80	0.511
Tratamiento (potencia)	2	344.381	172.190	595.59	0.000
Error	4	1.156	0.289		
Total	8	345.998			

### **Prueba de significancia de Tukey**

Factor	N	Mean	Grouping
b1 (200w)	3	15.563	A
b2 (400w)	3	3.0333	B
b3 (600w)	3	1.9200	B

## **b.4 Efecto en la extracción de 13 $\alpha$ -hidroxilupanina**

### **Analysis of Variance**

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Bloques (repetición)	2	0.0667	0.03334	0.76	0.525
Tratamiento (potencia)	2	9.8150	4.90751	111.93	0.000
Error	4	0.1754	0.04384		
Total	8	10.0571			

### **Prueba de significancia de Tukey**

Factor	N	Mean	Grouping
b1 (200w)	3	2.467	A
b2 (400w)	3	1.8200	B
b3 (600w)	3	0.000000	C

## **b.5 Efecto en la extracción del total de alcaloides**

### **Analysis of Variance**

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Bloques (repetición)	2	8.8	4.40	1.12	0.411
Tratamiento (potencia)	2	10026.8	5013.41	1277.40	0.000
Error	4	15.7	3.92		
Total	8	10051.3			

### **Prueba de significancia de Tukey**

Factor	N	Mean	Grouping
b1 (200w)	3	83.72	A
b2 (400w)	3	17.1400	B
b3 (600w)	3	9.3300	C

#### 4. DISCUSIONES

##### Contenido de alcaloides de quinolizidina en las semillas tarwi

Los tipos y cantidades de alcaloides de quinolizidina encontrados en los granos de tarwi, expresan el perfil de estos en el *Lupinus mutabilis* Sweet, que se caracteriza por una mayor cantidad de lupanina (61,3 %), siendo este alcaloide el más representativo, seguido de la 13 $\alpha$ -hidroxilupanina (17,2 %), la nuttalina (12,5 %) y esparteína (9,0 %), estos resultados son parecidos con lo encontrado por Wink *et al.* (1995), quienes encontraron para el *Lupinus mutabilis*, lupanina 46 %, 13 $\alpha$ -hidroxilupanina 7 % y esparteína 16 %, por su parte Muzquiz *et al.* (1994), manifiestan que la lupanina y la lupinina son los alcaloides mayoritarios de la especie *Lupinus mutabilis*; hablando de la familia *Lupinus*, autores como Boschini *et al.* (2008), manifiestan que el alcaloide mayoritario es la lupanina, corroborado por Annicchiarico *et al.* (2014), también por Romeo *et al.* (2018).

##### Efecto de las potencias de extracción asistida por microondas en los alcaloides de quinolizidina residuales.

Los resultados son consistentes para todas las fracciones de los alcaloides de quinolizidina existentes en el tarwi, conforme se incrementa la potencia se logra una mayor extracción de estos, estas diferencias son significativas, para el caso de la lupanina, 13 $\alpha$ -hidroxilupanina y alcaloides totales se da para los tres niveles (200 W, 400 W y 600 W), para la esparteína y nuttalina a los dos niveles más altos (400 W y 600 W) son diferentes significativamente con el menor (200W), para el caso de la esparteína se logra la completa eliminación a las dos potencias más altas y la 13 $\alpha$ -hidroxilupanina se elimina completamente a 600 W, la potencia óptima será aquella energía suficiente para dañar la célula vegetal y permitir la liberación del alcaloide; estos resultados son coherentes con lo determinado por Ma *et al.* (2010) quienes indican que el efecto del poder de la irradiación influye en las interacciones y las tasas de equilibrio y controla la partición de analitos entre la muestra y la fase de extracción, lograron evidenciar un rango de potencias con una mayor extracción de tres alcaloides N-nornuciferina, O-nornuciferina, y nuciferina de la hoja de loto, probaron 120, 280, 460, 600 y 700 W, respectivamente, a pesar de no encontrar diferencias significativas entre ellas, hubo una tendencia a una mayor extracción a una potencia de

280 W; esto pone en evidencia que las diferencias se deben al tipo de alcaloide a extraer y que los rangos cambiaron en función a ello. Al respecto Veggi *et al.* (2012) indican que la potencia y la temperatura están directamente relacionadas, por lo que una mayor potencia eleva la temperatura en el sistema y aumenta el rendimiento de extracción hasta un punto en que este incremento se hace insignificante.

#### 5. CONCLUSIÓN

La potencia de 600 W en la extracción de alcaloides de quinolizidina asistida por microondas, fue la que logró la mayor extracción con los valores residuales siguientes: esparteína 0,00; lupanina 7,41; nuttalina 1,92 y 13 $\alpha$ -hidroxilupanina 0,00 mg / 100 g de harina de tarwi.

**Contribución de los autores:** Autor 1 planeamiento y desarrollo de la investigación y redacción del artículo científico. Autor 2 redacción del artículo científico.

**Conflictos de interés:** Los autores declaran no tener conflictos de interés.

##### Agradecimiento

Los autores agradecen el apoyo financiero para la ejecución del proyecto: **Tecnologías verdes: Mejoramiento del desamargado de tarwi (*Lupinus mutabilis*) asistido por radiación de microondas y extracción con CO<sub>2</sub> – supercrítico de triglicéridos y fitoesteroles y uso de quinolizidinas como bioinsecticidas de quinua**, a través del canon minero que la Universidad Nacional del Centro del Perú asigno como proyecto ganador del concurso 2017 – UNCP.

#### 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Angurel I., Casamitjana N., Caubet A., Dinares I., Llor N., Muñoz-Torrero D., Velasco D. (s.f.). *Operaciones básicas en el laboratorio de química*. Universat de Barcelona.
- Annicchiarico P., Manunza P., Arnoldi A. y Boschini G. (2014). Quality of *Lupinus albus* L. (white lupin) seed: extent of genotypic and environmental effects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62 (28), 6539–6545. doi: 10.1021 / jf405615k
- Aradilla Z. D., Oliver P. R., Estrany C. F. (2009). La química de la radiación de microondas. *Técnica Industrial* 284.
- Baer D., Reimerdes E. H. & Feldheim W. (1979). Methoden zur Bestimmung der Chinolizidinalkaloide in *Lupinus mutabilis*.



- Zeitschrift Für *Lebensmittel-Untersuchung Und -Forschung*, 169(1), 27–31. doi:10.1007/bf01353410
- Boschin G., Annicchiarico P., Resta D., D'Agostina A., y Arnoldi A. (2008). Quinolizidine alkaloids in seeds of lupin genotypes of different origins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56 (10), 3657–3663. doi: 10.1021 / jf7037218
- Elez G. I., Dragović-Uzelac V., Režek J. A., y Jukić, M. (2013). The effect of microwave assisted extraction on the isolation of anthocyanins and phenolic acids from sour cherry Marasca (*Prunus cerasus* var. Marasca). *Journal of Food Engineering*, (117) 4: 437–442. doi: 10.1016 / j. jfoodeng.2012.12.043
- Hatzold T., Elmadfa I., Gross R., Wink M., Hartmann T. y Witte L. (1983). Quinolizidine alkaloids in sedes of *Lupinus mutabilis*. *J. Agric. Food Chem.* (31) 5: 934-938. doi: 10.1021 / jf00119a003
- Jain T., Jain V., Pandey R., Vyas A., Shukla S.S. (2009) Microwave assisted extraction for phytoconstituents – an overview. *Asian J. Research Chem.* 2009; 2(1):19–25.
- Khoddami A., Wilkes M., y Roberts T. (2013). Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*, 18 (2), 2328–2375. doi: 10.3390 / molecules18022328
- Lara K. (1999). *Estudio de alternativas para el desamargado de chocho (Lupinus mutabilis Sweet)*. Tesis de doctorado en química. Escuela Superior Politécnica del Chimborazo. Ecuador.
- Lovrić V., Putnik P., Bursać K. D., Jukić M., ..., Dragović-Uzelac V. (2017). Effect of microwave-assisted extraction on the phenolic compounds and antioxidant capacity of blackthorn flowers. *Food Technol. Biotechnol.*, (55) 2: 243-250. doi: 10.17113 / ftb.55.02.17.4687
- Ma W., Lu Y., Hu R., Chen J., Zhang Z. y Pan Y. (2010). Application of ionic liquids based microwave-assisted extraction of three alkaloids N-nornuciferine, O-nornuciferine, and nuciferine from lotus leaf. *Talanta*, 80 (3), 1292-1297. doi: 10.1016 / j.talanta.2009.09.027
- Mingos D. M. P., & Baghurst D. R. (1991). Tilden lecture. Applications of microwave dielectric heating effects to synthetic problems in chemistry. *Chemical Society Reviews*, 20(1), 1. doi:10.1039/cs9912000001
- Muzquiz M., De la Cuadra C., Cuadrado C., Burbano C. y Calvo R. (1994). Herbicide-like effect of *Lupinus* alkaloids. *Industrial Crops and Products*, 2 (4), 273–280. doi: 10.1016 / 0926-6690 (94) 90118-x
- Quitain A.T., Ozturk B., Mission E. G. y Sasaki M. (2017). Microwave-assisted pressurized hot water Extraction of Alkaloids. *Water Extraction of Bioactive Compounds – from Plants to Drug Development*, Chapter 10. Editores: Herminia Dominguez González y María Jesús González Muñoz 269–289. doi: 10.1016 / b978-0-12-809380-1.00010-3
- Romeo F., Fabroni S., Ballistreri G., Muccilli S., Spina A. y Rapisarda P. (2018). Characterization and antimicrobial activity of alkaloid extracts from seeds of different genotypes of *Lupinus* spp. *Sustainability*, 10 (3), 788. doi: 10.3390 / su10030788
- Routray W. y Orsat V. (2011). Microwave-assisted extraction of flavonoids: A review. *Food Bioprocess Technology*, 5 (2), 409–424. doi: 10.1007 / s11947-011-0573-z
- Strauss C.R. (2002). Applications of microwaves for environmentally benign organic chemistry Chapter 17. *Handbook of green chemistry and technology*. Edited by James Clark, Duncan Macquarrie.
- Torres-Tello F. (1976). *Lupinus mutabilis* Sweet -a potent food source from the Andean region. *Journal of Clinical Nutrition* 29:933.
- Veggi P. C., Martinez J., & Meireles M. A. A. (2012). Fundamentals of microwave extraction in *Microwave assisted extraction for bioactive compounds*, 15–52. doi: 10.1007 / 978-1-4614-4830-3\_2
- Wink M., Meißner C. y Witte L. (1995). Patterns of quinolizidine alkaloids in 56 species of the genus *Lupinus*. *Phytochemistry*, 38 (1), 139-153. doi: 10.1016 / 0031-9422 (95) 91890-d
- Xiong W., Chen X., Lv G., Hu D., Zhao J. y Li S. (2016). Optimization of microwave-assisted extraction of bioactive alkaloids from lotus plumule using response surface methodology. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6 (6), 382–388. doi: 10.1016 / j.jpha.2016.05.007
- Zhu X., Su Q., Cai J. y Yang J. (2006). Optimization of microwave-assisted solvent extraction for volatile organic acids in tobacco and its comparison with conventional extraction methods. *Analytica Chimica Acta*, 579 (1), 88–94. doi: 10.1016 / j.aca.2006.07.005