



Aceites esenciales: métodos de extracción

H. A. Peredo - Luna^{*}, E. Palou – García y A. López - Malo

*Departamento de Ingeniería Química y Alimentos, Universidad de las Américas Puebla
San Andrés Cholula, Pue., México*

Resumen

Los aceites esenciales son sustancias aromáticas que se encuentran en numerosas plantas. Estos pueden ser extraídos de diferentes partes de las plantas como hojas, tallos, flores y raíces. Aquellos provenientes de especias y condimentos son cada vez más utilizados en la industria de los alimentos y farmacéutica. De los diferentes métodos de extracción de aceites esenciales, la destilación por arrastre de vapor, la extracción con disolventes, la extracción por fluidos supercríticos y por medio del uso de microondas se revisarán en este trabajo, estableciendo algunas de sus ventajas y limitaciones. También se abordará brevemente el uso de ultrasonido como pre-tratamiento para la extracción de aceites esenciales. Los métodos convencionales, arrastre de vapor y el uso de disolventes, requieren de tiempos de extracción prolongados; mientras que los métodos alternativos, fluidos supercríticos y microondas, no sólo requieren menores tiempos sino que también consumen menos energía.

Palabras clave: Aceites esenciales, extractos, destilación por arrastre de vapor, extracción por disolvente, fluidos supercríticos, microondas, ultrasonido.

Abstract

Essential oils are aromatic substances found in several plants, which can be extracted from leaves, twigs, flowers, and roots. Essential oils from spices and condiments are increasingly used in food and pharmaceutical industry. There are different methods for essential oil extraction; steam distillation, solvent extraction, supercritical fluid extraction and microwave extraction will be examined in this paper, including some of their advantages and limitations. In addition, ultrasound as a pre-treatment to enhance extraction will be pointed out. Conventional methods such as steam distillation and solvent extraction require long extraction times while alternative methods as supercritical fluid and microwave extraction reduce extraction time and energy requirements.

Keywords: essential oils, plant extracts, steam distillation, solvent extraction, supercritical fluids, microwaves, ultrasound.

Introducción

Los aceites esenciales y extractos de plantas se han utilizado desde hace mucho tiempo

para obtener aromas y sabores. En años recientes se han estudiado los extractos y aceites esenciales de condimentos y especias desde un punto de vista funcional. Es decir, se ha estudiado si los extractos o aceites esenciales tienen actividad antimicrobiana, si actúan como agentes antioxidantes o si

* Programa de Maestría en Ciencia de Alimentos
Tel.: +52 222 229 2126, fax: +52 222 229 2727
Dirección electrónica: hareli.pluna@gmail.com

aportan nutrientes. Los métodos de obtención de los aceites esenciales determinan el uso de los mismos. El tipo de disolvente puede contaminarlos o limitar su uso, dependiendo de la toxicidad del disolvente y de las técnicas utilizadas para su eliminación. De ahí la importancia de investigar métodos nuevos y/o alternativos para la obtención de extractos y aceites esenciales.

Las propiedades funcionales de los extractos varían con la proporción de los compuestos presentes. Para especias diferentes se obtienen respuestas diferentes en su actividad antimicrobiana de acuerdo a las condiciones en las que se procesan (Thongson *et al.*, 2004). Diversas investigaciones demuestran que la composición de los aceites esenciales y extractos puede variar de acuerdo al método de extracción utilizado. Aunque estas variaciones pueden no ser importantes, son detectables por técnicas sensibles como la cromatografía de gases. Las variaciones radican en diferencias en la proporción de los compuestos e incluso en diferencias en el número de los compuestos (Sefidkon *et al.*, 2006; Guan *et al.*, 2007; Da Porto *et al.*, 2009). Es importante identificar los efectos de diversos métodos de extracción sobre las propiedades y composición de los aceites esenciales y otros extractos obtenidos.

Por todo lo anterior, en este trabajo se revisarán algunos de los métodos de extracción convencionales más utilizados y algunos métodos alternativos, así como sus principales ventajas y limitaciones. Concretamente, se revisarán la destilación por arrastre de vapor, extracción con disolventes, extracción por fluidos supercríticos y extracción por microondas. También se discutirán brevemente los efectos de pre-tratamientos con ultrasonido de baja frecuencia sobre la extracción de aceites esenciales.

Revisión bibliográfica

Aceites esenciales y otros extractos

Los aceites esenciales son sustancias aromáticas de base lipídica encontradas prácticamente en todas las plantas; son muy numerosos y están ampliamente distribuidos en las distintas partes de la planta: raíces, tallos, hojas, flores y frutos. Los aceites esenciales son componentes heterogéneos de terpenos, sesquiterpenos, ácidos, ésteres, fenoles, lactonas; separables por métodos químicos o físicos, como la destilación, la refrigeración, la centrifugación, entre otros (Vásquez *et al.*, 2001).

El uso de los aceites esenciales de condimentos y especias en las industrias de alimentos y farmacéutica es cada vez más generalizado, debido en parte a la homogeneidad del aroma y a la minimización de las posibilidades de contaminación microbiana, cuando se compara con el uso directo de tales especias y condimentos (Vásquez *et al.*, 2001).

Otro tipo de extracto derivado de las especias son las oleoresinas que están constituidas por aceites esenciales, resinas orgánicamente solubles y otros materiales relacionados como ácidos grasos no volátiles. La cantidad de lípidos depende de la materia prima y el disolvente usado en la extracción. Las semillas tendrán una fracción lipídica mayor que otras partes de la planta (Farrel, 1985). En las oleoresinas, los componentes deben estar en la misma proporción que en la especia original. Las resinas y lípidos actúan como fijadores naturales de los compuestos más volátiles de los aceites esenciales. Algunas son difíciles de manejar por su viscosidad y su adherencia. Pueden agregarse otros compuestos como aceite esencial, triacilglicéridos con el fin de estandarizar las oleoresinas para obtener productos de mayor calidad (Farrel, 1985).

Los aceites esenciales son los principales constituyentes del aroma y sabor de las especias. Estos son destilados por arrastre de vapor sencillo, en seco, a vacío u obtenidos por presión en frío (Farrel, 1985). Las especias y sus aceites esenciales presentan la propiedad de inhibir el crecimiento de microorganismos, expresada como actividad antimicrobiana, actuando como agentes bacteriostáticos o antifúngicos. Estas propiedades se han conocido durante siglos. La canela, el comino y el tomillo se utilizaban en el antiguo Egipto en los embalsamamientos; en India y China para conservar alimentos y como remedios medicinales. Otra propiedad funcional de los aceites esenciales es la de actuar como antioxidantes, retrasando o inhibiendo la oxidación de aceites y lípidos en general. La canela presenta este tipo de actividad, pero no es tan efectiva como la mostrada por los aceites de romero, salvia y orégano (Hirasa y Takemasa, 2002).

Los aceites esenciales se caracterizan por sus propiedades físicas, como densidad, viscosidad, índice de refracción y actividad óptica. La mayoría de los aceites esenciales tiene una densidad menor a la del agua excepto los aceites de almendras amargas, mostaza, canela, perejil o clavo. El índice de refracción es una propiedad característica de cada aceite esencial y cambia cuando éste se diluye o mezcla con otras sustancias (Ortuño, 2006).

Métodos de extracción

Destilación por arrastre de vapor

En la destilación por arrastre de vapor de agua se lleva a cabo la vaporización selectiva del componente volátil de una mezcla formada por éste y otros "no volátiles". Lo anterior se logra por medio de la inyección de vapor de agua directamente en el seno de la mezcla, denominándose este "vapor de

arrastre", pero en realidad su función no es la de "arrastrar" el componente volátil, sino condensarse formando otra fase inmiscible que cederá su calor latente a la mezcla a destilar para lograr su evaporación. En este caso se tendrá la presencia de dos fases inmiscibles a lo largo de la destilación (orgánica y acuosa), por lo tanto, cada líquido se comportará como si el otro no estuviera presente. Es decir, cada uno de ellos ejercerá su propia presión de vapor y corresponderá a la del líquido puro a una temperatura de referencia (Wankat, 1988). La condición más importante para que este tipo de destilación pueda ser aplicado es que tanto el componente volátil como una impureza sean insolubles en agua, ya que el producto destilado (volátil) formará dos fases al condensarse, lo cual permitirá la separación del producto y del agua fácilmente. La presión total del sistema será la suma de las presiones de vapor de los componentes de la mezcla orgánica y del agua. Sin embargo, si la mezcla a destilar es un hidrocarburo con algún aceite, la presión de vapor del aceite al ser muy pequeña se considera despreciable.

En la destilación por arrastre es posible utilizar un gas inerte para el arrastre (Fair, 1987). Sin embargo, el empleo de vapores o gases diferentes al agua implica problemas adicionales en la condensación y recuperación del destilado o gas. El comportamiento que tendrá la temperatura a lo largo de la destilación será constante, ya que no existen cambios en la presión de vapor o en la composición de los vapores de la mezcla, es decir, el punto de ebullición permanecerá constante mientras ambos líquidos estén presentes en la fase líquida. En el momento que uno de los líquidos se elimine por la propia ebullición de la mezcla, la temperatura ascenderá bruscamente (Wankat, 1988). Existe una gran diferencia entre una destilación por arrastre y una simple, ya que en la primera no se presenta

un equilibrio de fases líquido-vapor entre los dos componentes a destilar como se da en la destilación simple. Por lo tanto, no es posible realizar diagramas de equilibrio, ya que en el vapor nunca estará presente el componente "no volátil" mientras esté destilando el volátil. Además, en la destilación por arrastre de vapor el destilado obtenido será puro en relación al componente no volátil (aunque requiera de una decantación para ser separado del agua), algo que no sucede en la destilación simple, en la cual el destilado sigue presentando ambos componentes aunque más enriquecido en alguno de ellos. Por otra parte, si este tipo de mezclas con aceites de alto peso molecular fueran destiladas sin la adición del vapor se requeriría de gran cantidad de energía para calentarlas y se emplearía mayor tiempo, pudiéndose descomponer si se trata de aceites esenciales.

La destilación por arrastre de vapor son que es un método sencillo y de bajo costo, pero su inconveniente es que requiere largos periodos de tiempo y tiene rendimientos bajos en comparación con otros métodos (Sefidkon *et al.*, 2006; Guan *et al.*, 2007; Da Porto *et al.*, 2009).

Extracción con disolventes

En el método de extracción con disolventes volátiles, la muestra seca y molida se pone en contacto con disolventes orgánicos tales como alcohol y cloroformo, entre otros. Estos disolventes solubilizan la esencia pero también solubilizan y extraen otras sustancias tales como grasas y ceras, obteniéndose al final una oleoresina o un extracto impuro. Se utiliza a escala de laboratorio porque a nivel industrial resulta costoso por el valor comercial de los disolventes, porque se obtienen esencias contaminadas con otras sustancias, y además por el riesgo de explosión e incendio

característicos de muchos disolventes orgánicos volátiles (Martínez, 2003).

Algunos disolventes utilizados en este método de extracción tienen restricciones en cuanto a los residuos máximos que pueden dejarse cuando los aceites esenciales son la materia prima en las industrias de los perfumes o alimentos. Estos límites varían de acuerdo a las diferentes legislaciones. Los disolventes derivados del petróleo, como éter dietílico, ciclohexano, hexano, acetato de metilo, propanol, etc., son tóxicos al inhalarlos y al contacto con la piel, y dependiendo del tiempo de exposición será la gravedad de los efectos. Los extractos obtenidos con este tipo de disolventes suelen ser más oscuros, ya que llegan a arrastrar algunos pigmentos, su solubilidad en alcohol diluido es menor y se recuperan muchos compuestos de tipo aromático. El disolvente con el aceite esencial se filtra y se evapora a presión atmosférica y/o a vacío. Los restos de disolvente deben separarse a temperatura baja (Ortuño, 2006).

En este tipo de procedimientos se obtienen masas viscosas, según la materia prima, que contienen el aceite esencial, grandes cantidades de ceras, resinas y pigmentos, que se eliminan realizando extracciones con alcohol, enfriando a -13°C, filtrando y evaporando el alcohol (Ortuño, 2006). Los métodos más usados a nivel laboratorio son extracción por reflujo y mediante equipo Soxhlet (Thongson *et al.*, 2004; Proestos y Komaitis, 2006). Otro tipo de extracción por disolventes, mayormente usada a nivel laboratorio, es la maceración o extracción alcohólica, en la cual la materia orgánica reposa en soluciones de alcohol por períodos de tiempo definidos. Los aceites esenciales son recuperados evaporando el alcohol, generalmente en rotavapores (Chua *et al.*, 2008).

La extracción con disolventes tiene importantes desventajas. Además de que requiere de periodos de tiempo relativamente largos, los aceites esenciales obtenidos contienen trazas de los disolventes utilizados; limitando su uso en la industria de los alimentos, la industria cosmética o farmacéutica (Khajeh *et al.*, 2004; Danjanović *et al.*, 2005; Khajeh *et al.*, 2005; Vági *et al.*, 2005; Guan *et al.*, 2007).

Extracción por fluidos supercríticos

La extracción por fluidos supercríticos es una operación unitaria que explota el poder disolvente de fluidos supercríticos en condiciones encima de su temperatura y presión críticas. Es posible obtener extractos libres de disolvente usando fluidos supercríticos y la extracción es más rápida que con la utilización de disolventes orgánicos convencionales. Estas ventajas son debidas a la alta volatilidad de los fluidos supercríticos (gases en condiciones ambientales normales) y a las propiedades de transporte mejoradas (alta difusividad y baja viscosidad). Usando dióxido de carbono, en particular, el tratamiento es a temperatura moderada y es posible lograr una alta selectividad de micro-componentes valiosos en productos naturales. La selectividad del CO₂ también es apropiada para la extracción de aceites esenciales, pigmentos, carotenoides antioxidantes, antimicrobianos y sustancias relacionadas, que son usadas como ingredientes para alimentos, medicinas y productos de perfumería y que son obtenidas de especias, hierbas y otros materiales biológicos (Del Valle y Aguilera, 1999).

La extracción de compuestos fenólicos y pigmentos se ve favorecida con el uso de co-disolventes, como etanol, junto al CO₂ según Vatai *et al.* (2009). La eficiencia de la extracción se mejora de forma importante cuando la muestra se pre-trata con CO₂

comprimido, disminuyendo la cantidad de ceras en el extracto (Gaspar *et al.*, 2000). La Figura 1 esquematiza un proceso de extracción con CO₂. El gas es enfriado y después presurizado con una bomba. La presión y temperatura de extracción son controlados por un regulador de contrapresión y un calentador. A la salida del recipiente de extracción el gas es expandido en una válvula antes de entrar al primer colector, que se encuentra casi a temperatura ambiente. La corriente de salida es llevada a una temperatura de 40°C a 45°C y expandida a presión atmosférica en otra válvula, después pasa a dos colectores fríos en paralelo. La velocidad de flujo en la última parte del proceso es monitoreada con un rotámetro y un flujómetro de gas, antes de descargar el CO₂. El extracto es colectado a intervalos cerrando la válvula que está al final de la tubería al primer colector con disolvente caliente, de la bureta, que se encuentra en la parte superior. El extracto obtenido del primer colector es mezclado con el del segundo para un volumen dado de disolvente y retenido para analizar los aceites esenciales y ceras cuticulares contenidas (Gaspar *et al.*, 2000).

Entre las ventajas de la extracción por fluidos supercríticos se encuentran: (a) que los tiempos de extracción se reducen; (b) se obtienen rendimientos mayores; (c) es posible seleccionar sustancias y la composición de los extractos, cambiando los parámetros de extracción; y (d) se requiere menos energía. La principal desventaja es que ceras cuticulares y compuestos de alto peso molecular son extraídos junto con el aceite esencial (Khajeh *et al.*, 2004; Danjanović *et al.*, 2005; Khajeh *et al.*, 2005; Vági *et al.*, 2005; Guan *et al.*, 2007; Yamini *et al.*, 2008).

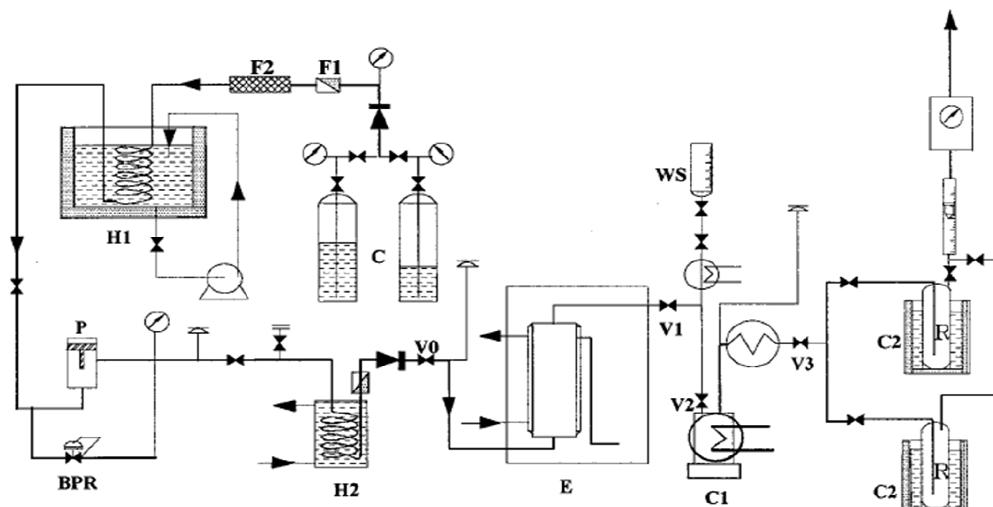


Fig. 1. Esquema de un aparato de extracción con CO₂. C: Contenedor de CO₂; H1: intercambiador para enfriamiento; P: comba; BPR: regulador de contrapresión; H2: intercambiador para suministrar calor; E: recipiente de extracción; WS: bureta con disolvente; C1: primer colector; C2: colectores en paralelo; V(0,1,2,3): válvulas. Adaptado de Gaspar *et al.* (2000)

Extracción por microondas

El uso de microondas es otra alternativa para la extracción de aceites esenciales. Esta técnica puede utilizarse asistiendo un método convencional como la hidro-destilación o adaptando un equipo para establecerlo como un método independiente, como la extracción por microondas sin disolvente (Kimbaris *et al.*, 2006; Bayramoglu *et al.*, 2008; Golmakani y Rezaei, 2008; Bousbia *et al.*, 2009). La extracción por microondas sin disolvente, SFME (*solvent free microwave extraction*) por sus siglas en inglés, combina el calentamiento por microondas y la destilación seca. No se necesita agregar ningún disolvente o agua si se emplea material fresco. En caso de que el material esté seco, éste se rehidrata remojándolo en agua y drenando el exceso antes de la extracción. Los equipos para llevar a cabo esta técnica se pueden adaptar modificando un horno de microondas convencional, haciendo un orificio en la parte superior que

conecte un matraz de fondo plano con un aparato de refrigeración (un condensador conectado a un tubo de separación por gravedad, por el que pasa una corriente de agua fría), sellando la conexión con el horno para evitar la fuga de microondas (Bayramoglu *et al.*, 2008). De igual forma, la hidro-destilación asistida con microondas adapta un aparato de destilación a un horno de microondas (Kimbaris *et al.*, 2006; Golmakani y Rezaei, 2008). En la Figura 2 se muestra el esquema de un equipo de laboratorio para este tipo de método de extracción.

La extracción por microondas ofrece beneficios como una reducción considerable del tiempo y del consumo de energía (Kimbaris *et al.*, 2006; Bayramoglu *et al.*, 2008; Golmakani y Rezaei, 2008; Bousbia *et al.*, 2009). Este método puede realizarse a gran escala con reactores de microondas, pero se requieren altos niveles de seguridad (Bousbia *et al.*, 2009).

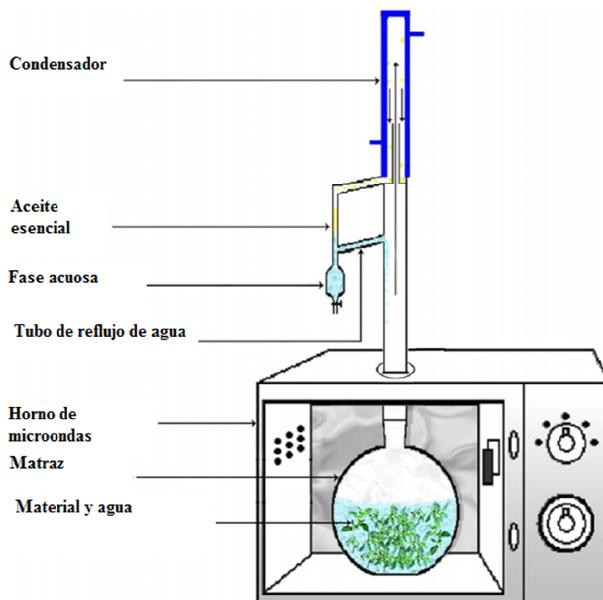


Fig. 2. Representación esquemática de un equipo de hidrodestilación asistida con microondas. Adaptado de Golmakani y Rezaei (2008).

Para el método conocido como hidrodifusión de microondas y gravedad, *microwave hydrodiffusion and gravity*, Bousbia *et al.* (2009) proponen que la transferencia de masa y de calor durante el proceso ocurre en la misma dirección, desde el interior del material hacia el exterior. Esto permite que el aceite esencial y el agua *in situ* del material, sean extraídos (hidrodifusión) y sean separados por gravedad.

Efecto de pre-tratamientos con ultrasonido de baja frecuencia

El ultrasonido se encuentra en la región de frecuencias entre 18 kHz y 100 MHz; puede dividirse en ultrasonido de alta intensidad, con frecuencias bajas, entre 20 y 100 kHz y ultrasonido de diagnóstico entre 1 y 10 MHz. El ultrasonido de alta intensidad tiene la capacidad de inducir cavitación. También se ha considerado una fuente potencial para incrementar la reactividad química. Puede usarse en diversos procesos químicos e industriales (Bendicho y Lavilla, 2000).

El ultrasonido se aplica como una alternativa de extracción o para asistir en procesos de extracción de componentes volátiles de plantas, incluyendo aceites esenciales. La proporción en la composición de los extractos y el rendimiento de éstos depende de la temperatura a la que se lleve a cabo el proceso y del disolvente, o mezcla de disolventes, que se utilicen (Proestos y Komaitis, 2006).

En general, la aplicación de ultrasonido de baja frecuencia o alta intensidad, incrementa la eficiencia de la extracción y reduce el tiempo de ésta (Thongson *et al.*, 2004; Proestos y Komaitis, 2006). También disminuye el riesgo de degradación térmica, cuando la extracción se realiza a temperaturas de 25°C (Kimbaris *et al.*, 2006). La desventaja de la implementación de ultrasonido es que involucra el uso de disolventes orgánicos.

Conclusiones

Los métodos convencionales para la extracción de aceites esenciales son sencillos, pero suelen tener rendimientos bajos. Los métodos alternativos ofrecen ventajas reduciendo los tiempos de extracción y el consumo de energía; sin embargo, en algunos casos para llevarlos a escala industrial aún es necesario realizar mayor investigación. La elección del método de extracción depende de la finalidad para la que son requeridos los extractos o aceites esenciales y si existe un interés particular por la concentración y/o recuperación de algún compuesto en especial.

Referencias

- Bayramoglu, B., Shanin, S. y Sumnu, G. 2008. Solvent-free microwave extraction of essential oil from oregano. *Journal of Food Engineering*. 88:535-540.
- Bendicho, C. y Lavilla, I. 2000. Ultrasound Extraction. En I.D. Wilson, E. R. Adlard, M. Cooke, y C. F. Poole (Eds). *Encyclopedia of Separation Science*. Academic Press. Reino Unido. pp. 1448 - 1454
- Bousbia, N., Vian, M. A., Ferhat, M. A., Petitcolas, E., Meklati, B. Y., Chemat, F. 2009. Comparison of two isolation methods for essential oil from rosemary leaves: hydrodistillation and microwave hidrodiffusion and gravity. *Food Chemistry*. 114:355-362.
- Chua, M. - T., Tung, Y. - T. y Chang, S. - T. 2008. Antioxidant activities of ethanolic extracts from the twigs of *Cinnamomum osmophloeum*. *Bioresource Technology*. 99:1918-1925.
- Da Porto, C., Decorti, D. y Kikic, I. 2009. Flavour compounds of *Lavandula angustifolia* L. to use in food manufacturing : Comparison of three different extraction methods. *Food Chemistry*. 112:1072-1078.
- Danjanović, B., Lepojević, Ž., Živković, V. y Tolić, A. 2005. Extraction of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) seeds with supercritical CO₂: Comparison with hydrodistillation. *Food Chemistry*. 92:143-149.
- Del Valle, J. M. y Aguilera, J. M. 1999. Review: high pressure CO₂ extraction. Fundamentals and applications in the food industry. *Food Science and Technology*. 5(1):1-24.
- Fair, J.R. 1987. Distillation. En R.W. Rousseau (Ed). *Handbook of separation Process technology*. Wiley. Nueva York. Estados Unidos de América. pp. 229-339.
- Farrel, K. T. 1985. *Spices, Condiments and Seasonings*. Avi. Connecticut. EE.UU. 414p.
- Gaspar, F., Santos, R. y King, M. B. 2000. Extraction of essential oils and cuticular waxes with compressed CO₂: effect of matrix pretreatment. *Industrial and Engineering Chemical Research*. 39:4603-4608.
- Golmakani, M. T. y Rezaei, K. 2008. Comparison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oil from *Thymus vulgaris* L. *Food Chemistry*. 109:925-930.
- Guan, W., Li, S., Yan, R., Thang, S. y Quan, C. 2007. Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbon dioxide and other three traditional extraction methods. *Food Chemistry*. 101:1558-1564.
- Hirasa, K. y Takemasa, M. 2002. *Ciencia y Tecnología de las Especias*. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza. España. 241p.
- Khajeh, M., Yamini, Y., Sefidkon, F. y Bahramifar, N. 2004 Comparison of essential oil composition of *Carum copticum* obtained by supercritical carbon dioxide extraction hydrodistillation methods. *Food Chemistry*. 86:587-591.
- Khajeh, M., Yamini, Y., Bahramifar, N., Sefidkon, F. y Pirmoradei, M. R. 2005. Comparison of essential oils composition of *Ferula assa-foetida* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods. *Food Chemistry*. 91:639-644.
- Kimbaris, A. C., Siatis, N. G. Daferera, D. J., Tarantilis, P. A., Pappas, C. S., y Polissiou, M. G. 2006. Comparison of distillation and ultrasound-assisted extraction methods for the isolation of sensitive aroma compounds from garlic (*Allium sativum*). *Ultrasonics Sonochemistry*. 13:54-60.

- Martínez, A. 2003. *Aceites esenciales*. Universidad de Antioquia. Medellín. Colombia. <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/esencias2001b.pdf>, accesada: 04/12/2008.
- Ortuño, M. F. 2006. *Manual Práctico de Aceites Esenciales, Aromas y Perfumes*. Aiyana. España. 274p.
- Proestos, C. y Komaitis, M. 2006. Ultrasonically assisted extraction of phenolic compounds from aromatic plants: comparison with conventional extraction techniques. *Quality Journal of Food*. 29:567-582.
- Sefidkon, F., Abbasi, K. y Khaniki, G. B. 2006. Influence of drying and extraction methods on ngibre (*Zingiber officinale*), *Revista Amazónica de Investigación Alimentaria*, 1(1):38 – 42. Universidad Nacional Amazónica del Perú. Perú.
- Vatai, T., Škerget, M. y Knez, Z. 2009. Extraction of phenolic compounds from elderberry and different grape marc varieties using organic solvents and/or supercritical carbon dioxide. *Journal of Food Engineering*. 90:246-254.
- Wankat, P.C. 1988. *Equilibrium Staged Separations. Separations in Chemical* yield and chemical composition of the essential oil of *Satureja hortensis*. *Food Chemistry*. 99:19-23.
- Thongson, C., Davison, P.M., Mahakarnchanakul, W. y Weiss, J. 2004. Antimicrobial activity of ultrasound-assisted solvent-extracted spices. *Letters in Applied Microbiology*. 39:401-406.
- Vági, E., Simándi, B., Suhajda, Á. y Héthelyi, É. 2005. Essential oil composition and antimicrobial activity of *Oranigum majorana* L. extracts obtained with ethyl alcohol and supercritical carbon dioxide. *Food Research International*. 38:51-57.
- Vásquez, O., Alva, A. y Marreros, J. 2001. Extracción y caracterización del aceite de je *Engineering*. Elsevier. Nueva York. EE.UU. 707p.
- Yamini, Y., Khajeh, M., Ghasemi, E., Mirza, M. y Javidnia, K. 2008. Comparison of essential oil composition of *Salvia mirzayanii* obtained by supercritical carbon dioxide extraction hydrodistillation methods. *Food Chemistry*. 108:341-346.