

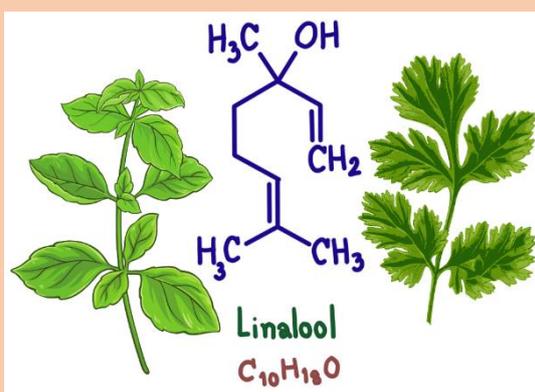
Extracción del aceite esencial de albahaca (*Ocimum basilicum*) y cilantro (*Coriandrum sativum*) con CO₂ supercrítico y sus posibles aplicaciones

Juan Cáliz,[§] José Estrada,[§] Haider Jiménez,^{* §} y Erick Meneses[§]

[§]Facultad de Ciencias y Biotecnología, Programa de Química Farmacéutica, Universidad CES, Medellín 050021, Colombia

RESUMEN: Se realizaron experimentos exploratorios con el uso de CO₂ supercrítico para la extracción del aceite esencial de las hojas de albahaca (*Ocimum basilicum*) y de cilantro (*Coriandrum sativum*) con la finalidad de verificar las condiciones de extracción adecuadas para estas plantas. Se analizó la influencia de factores como: humedad del material vegetal, presión y temperatura de extracción y flujo de extracción. Las extracciones se realizaron en un equipo Speed-SFE (Applied Separations) y se recolectaron en viales de 5mL. Los rendimientos se evaluaron en un lapso de diez (10) minutos durante una hora, dando como resultado una tendencia proporcional a medida que se incrementa el tiempo de extracción.

El aceite esencial extraído de este par de plantas posee moléculas de alto interés como el linalool que puede ser usado para la formulación de productos farmacéuticos, cosméticos y alimentarios debido a su potencial antimicrobiano, antifúngico, antioxidante, aromatizante y antiparasitario. También, podría reemplazar productos químicos, los cuales son tóxicos para los seres humanos y el medio ambiente.



En la actualidad, los compuestos orgánicos extraídos de plantas juegan un rol importante en la industria debido a que son una excelente fuente de productos farmacéuticos, cosméticos y alimentarios. Los aceites esenciales son las fracciones líquidas volátiles que se encuentran en varias partes de la planta y contienen sustancias responsables de su aroma y en muchos casos sirven como mecanismos de defensa contra factores externos tales como herbívoros o patógenos que pueden afectarlas. Por lo general, son mezclas complejas de hasta más de cien componentes que van desde compuestos alifáticos de bajo peso molecular (alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos) hasta terpenos (monoterpenos, sesquiterpenos). Son sensibles a la luz UV

y a temperaturas extremas, además son insolubles en agua. Los aceites esenciales se usan en la actualidad para cumplir diversas funciones como aromatizantes, saborizantes, antimicrobianos, antioxidantes u otras.¹

La albahaca (*Ocimum basilicum*) es un miembro de la familia Lamiaceae que se usa principalmente como condimento alimentario. Es fuertemente aromático y económicamente importante para la producción de aceites esenciales para la perfumería y la industria cosmética. Como planta medicinal, se usa tradicionalmente en la medicina popular para el tratamiento de las vías respiratorias y urinarias, inflamación, tos, asma, entre otros.^{2,3,4} El extracto de albahaca tiene actividades antimicrobianas y antioxidantes⁵ debido a

sus compuestos fenólicos y aromáticos, además, posee propiedades insecticidas^{6,7} y es un prometedor fungistático.⁸

Por otro lado, el cilantro (*Coriandrum sativum*) pertenece a la familia Apiaceae y se usa generalmente como condimento alimenticio. Esta planta se usa en muchos países como medicina tradicional para tratar trastornos del sistema digestivo, respiratorio y urinario,⁹ así como diabetes,^{10,11} inflamación,¹² insomnio,¹³ ansiedad,¹⁴ convulsiones,¹⁵ cáncer^{16,17} y otras afecciones.¹⁸ El aceite esencial de cilantro se usa ampliamente en las industrias de alimentos, salud y cosmética en todo el mundo. Debido a las propiedades antioxidantes de los extractos de cilantro, a menudo se usan en la industria alimentaria como sustitutos de antioxidantes químicos.¹⁹ Ambas plantas han reportado en la literatura un alto contenido de una molécula monoterpénica llamada linalool, la cual tiene un gran potencial como agente antibacteriano,²⁰ antifúngico,^{21,22} antioxidante y antiparasitario^{23,24} y es de gran interés para la creación de productos alternos que permitan suplir estas necesidades y reducir la cantidad de productos químicos que en ocasiones pueden ser tóxicos para los seres humanos y el medio ambiente. Estas sustancias pueden extraerse por diferentes métodos: hidrodestilación, extracción con solventes orgánicos y extracción con fluido supercrítico (SFE). Se sabe que los monoterpenos son vulnerables a los cambios químicos en condiciones de destilación de vapor, y es probable que incluso la extracción convencional con disolventes implique pérdidas de compuestos más volátiles durante la eliminación del disolvente.²⁵

La extracción de fluido supercrítico con dióxido de carbono (CO₂) es importante en la extracción de compuestos naturales, especialmente en compuestos naturales inestables a la temperatura. El dióxido de carbono es el fluido supercrítico más utilizado en la industria alimentaria y farmacéutica, porque los extractos obtenidos no contienen residuos orgánicos. Además, el proceso de extracción puede llevarse a cabo a temperatura relativamente baja y presión moderada. El CO₂ no es tóxico, no es inflamable, es químicamente estable, económico y tiene un bajo punto crítico de temperatura y presión.²⁶ La selección de las condiciones de extracción (presión, temperatura y tiempo de extracción) puede afectar la composición final del extracto y el rendimiento del proceso. El cambiar la presión y / o la temperatura, modifica la densidad de los fluidos y genera una tendencia a obtener una alta selectividad durante la extracción.^{27,28}

La extracción de aceites esenciales con CO₂ supercrítico puede proporcionar ventajas como un mayor rendimiento, ser eco-amigable, eliminación fácil o reciclaje del solvente, ausencia del solvente en el aceite, el extracto no cambia químicamente al bajar las temperaturas, sin embargo, el equipo es de alto costo ya que se requieren bombas de alta presión y sistemas de extracción resistentes a tales presiones.²⁹

▪ RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las extracciones con CO₂ supercrítico generaron rendimientos con base en sus condiciones de operación (Tabla No. 1).

Tabla No. 1. Rendimientos porcentuales de las extracciones

Experimento	Material Vegetal		Tiempo de operación (minutos)	Rendimientos (% p/p)
	Fuente	Condición		
1	Cilantro	Húmeda	60	2,25%
2		Seca		0,50%
3				0,34%
4	Albahaca	Seca		0,45%
5				0,70%
6				0,32%

Se realiza registro de los rendimientos en intervalos de 10 minutos, obteniendo un rendimiento total a los 60 minutos, en cada material vegetal (Gráfico No. 1 y Gráfico No. 2). No obstante, los rendimientos presentan una tendencia de aumento, lo

que significa que un largo tiempo de extracción,³⁰ mejora el rendimiento de la extracción permitiendo un mayor contacto entre la matriz y el CO₂ para alcanzar el equilibrio en la fase de extracción

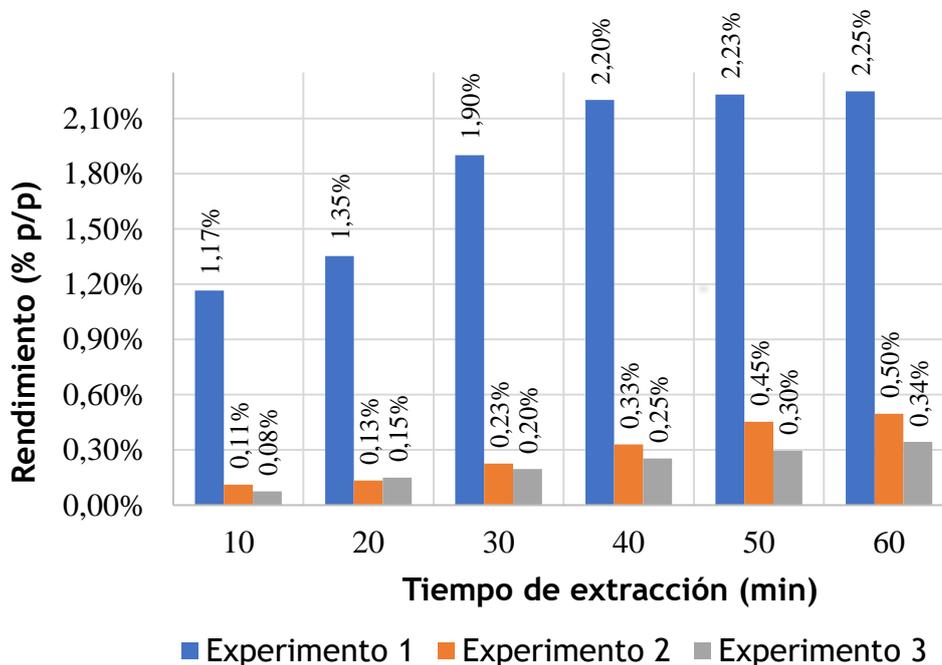


Gráfico No. 1. Registro de rendimiento en intervalos de 10 minutos. Material vegetal: cilantro

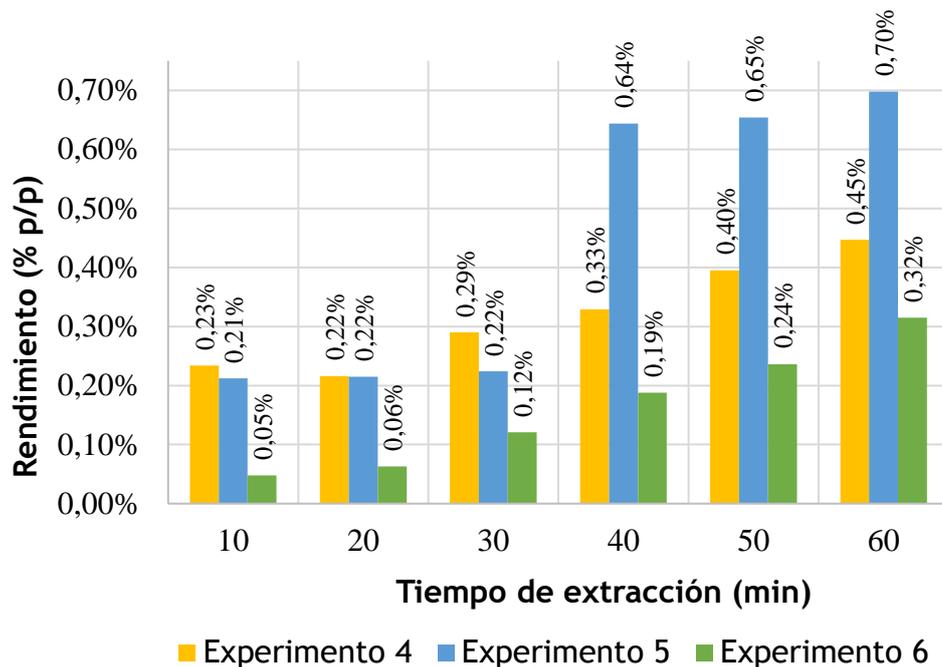


Gráfico No. 2. Registro de rendimiento en intervalos de 10 minutos. Material vegetal: albahaca

El experimento 1 en teoría obtuvo el mejor rendimiento, no obstante, esto se puede asociar a que con el material del experimento 1 se realizó la extracción en presencia de agua (la condición del material es húmeda) y de este punto parten las diferencias significativas con los demás ensayos.

Dada la necesidad de simular diferentes condiciones experimentales es necesario realizar la inserción dentro del ensayo de material sin presencia de humedad,³¹ por ello los posteriores experimentos se trabajaron en condición seca para evitar dicha interferencia, en cuanto a estos. Los experimentos con mayores rendimientos, respecto al material seco, son el experimento 2 y 5 para los cuales se muestran las condiciones experimentales que hicieron posible estos rendimientos tal y como se menciona en la sección experimental.

Si bien dentro de los seis experimentos realizados con el equipo de fluidos supercríticos se encuentran rendimientos cercanos al 2% en la escala no ajustada de

extracto puro obtenido del material vegetal sometido a estudio, esto no es prueba fidedigna de la presencia exclusiva de compuestos terpénicos dado que, al tratarse de una muestra compuesta de ceras, aceite esencial y compuestos volátiles como agua y otros solventes, no se puede hablar de rendimiento neto de moléculas de interés hasta realizar la caracterización de éste, por ello solo se puede hablar de la presencia de aceite esencial en términos generales.

Es importante resaltar que la relación de cada una de las variables (temperatura, presión, flujo de extracción) juegan un papel fundamental en el tiempo de los corridos de fluidos supercríticos y en el rendimiento obtenido (Véase tabla No. 1) se pudo observar evidentemente afectado para cada experimento, además otro de los factores críticos es tanto el área superficial de la matriz de extracción como las condiciones de la muestra siendo así fundamental que la muestra se procese primero en una estufa a 60°C durante tres

días para asegurar la evaporación total del agua presente en la muestra y luego sea triturada con la finalidad de disminuir a tal punto el tamaño de partícula, que se asegure una interacción eficaz entre la matriz de extracción y el fluido supercrítico y así, asegurar una óptima obtención de aceite esencial.

Posibles Aplicaciones. Dentro de las posibles aplicaciones, está la posibilidad de plantearse el uso de fases móviles e indicadores, algunas de las herramientas que la técnica de TLC (Cromatografía en Capa Fina, TLC por sus siglas en inglés) permite,³² es el uso de fases móviles que posiblemente se podrían aplicar en una investigación como esta con la finalidad de realizar una determinación de presencia de flavonoides, taninos y/o compuestos terpénicos puesto que estos compuestos, corresponden a diversos componentes presentes en los extractos de aceites esenciales pero suelen estar ligados químicamente y se requiere una separación por medio de solventes, siendo fundamental que esto se haga puesto que allí reposa un alto potencial para el diseño y fabricación de medicamentos y cosméticos.

Es así como algunas de las fases móviles que podrían utilizarse serían: Tolueno – Acetato de etilo 93:7, Cloroformo – Benceno 75:25, y Hexano– Acetato de etilo 9:1.³³ Además, se podrían emplear indicadores como el tricloruro férrico (en agua y en metanol) y el DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo),³⁴ para buscar la actividad antioxidante y la naturaleza misma de esos compuestos, en lo que se podrían tomar como punto de partida para estudios posteriores y caracterización de aceites esenciales extraídos mediante las técnicas acá mencionadas.

Los posibles experimentos realizados con la técnica de TLC permitirían confirmar la presencia de moléculas como terpenos y moléculas aromáticas. El linalool es un compuesto que posee una

estructura que es producto de la ruta metabólica de los terpenos y en su estructura base, puede asemejarse a un compuesto aromático, lo que hace presumir que en el extracto obtenido con el equipo de fluidos supercríticos SPEED-SFE (Applied Separations) en cada uno de los seis ensayos realizados, se encuentran este tipo de compuestos que pueden ser fundamentales para generar un producto que funcione en la vía de producir un tratamiento para la ectoparasitosis de múltiples especies, sin embargo, esto no se puede asegurar con el 100% de certeza puesto que en esta investigación solo se usaron herramientas para obtener las condiciones experimentales que permitan un rendimiento alto en cuanto a obtención de aceite esencial con el equipo de fluidos supercríticos, pero para caracterizar compuestos funcionales y con actividad antiparasitaria como es el caso del linalool,³⁵ esto solo se lograría luego de realizar ensayos con técnicas como HPLC (Cromatografía Líquida de Alta Eficacia, HPLC por sus siglas en inglés), CG (Cromatografía de Gases) acoplada a EM (Espectrometría de Masas) y TLC en combinación con reveladores como se mencionó anteriormente.

Finalmente, esta investigación deja material bibliográfico importante en el tintero y deja planteada por parte del grupo investigador la hipótesis de que al tratarse de un aceite esencial, no se tendrá un porcentaje de bioacumulación alto, lo que puede encaminar la investigación hacia una solución eco-amigable al tratamiento de la ectoparasitosis que actualmente se lleva a cabo con sustancias o insecticidas como por ejemplo los organosforados, estos compuestos tienen un alto índice de bioacumulación y deteriora la salud tanto de quienes los emplean como la de los animales en los cuales se emplea, por tanto, se podría generar así un impacto positivo para el ambiente y para los

agricultores del país puesto que la formulación,³⁶ de ser efectiva y utilizando un compuesto terpénico como el linalool, con muy poca cantidad de producto se lograría el efecto antiparasitario deseado, generando así un impacto positivo en el medio ambiente, la economía de los agricultores y su salud.

▪ SECCIÓN EXPERIMENTAL

Material Vegetal. Se obtienen hojas frescas de albahaca y cilantro del mercado mayorista de Medellín, Colombia. La mayoría de ellas se secaron en estufa a 60°C por 3 días, luego, son molidas manualmente logrando un tamaño de partícula menor, así aumentando eficiencia en el proceso.

Diseño Experimental para Extracción. Se diseña una matriz para lograr tres (3) extracciones de cada material vegetal con diferentes o similares condiciones de operación, para un total de seis (6) experimentos. Contando con un rango de 24g a 50g de peso de muestra (PM) para albahaca y entre 50g a 100g de PM para cilantro. Los rendimientos se obtienen del registro de peso de extracción sobre el PM multiplicado por 100, y se toma cada 10 minutos durante 60 minutos, registrando el rendimiento final a los 60 minutos.

Experimentos para Extracción. Los seis (6) experimentos son llevados a cabo de la siguiente forma para observar los cambios que generan ciertas variables en el rendimiento de obtención de aceite esencial: *Experimento 1:* Hojas de cilantro frescas, 100g de peso de muestra (PM), 373,15K de temperatura de extracción (TE), 350 bar de presión de extracción (PE) y 4 L/min de flujo de extracción (FE); *Experimento 2:* Hojas de cilantro secas, 66,33g de PM, 373,15K de TE, 350 bar de PE y 4 L/min de FE; *Experimento 3:* Hojas de cilantro secas, 51,20g de PM, 313,15K de TE, 200 bar de PE y 4 L/min de FE; *Experimento 4:* Hojas de albahaca secas, 24,14g de PM, 323,15K de TE, 200 bar de

PE y 4 L/min de FE; *Experimento 5:* Hojas de albahaca secas, 25,08g de PM, 323,15K de TE, 200 bar de PE y 3 L/min de FE; *Experimento 6:* Hojas de albahaca secas, 54,30g de PM, 323,15K de TE, 150 bar de PE y 4 L/min de FE.

Extracción con Fluidos Supercríticos. Las extracciones se realizan de modo estáticas en el equipo SPEED-SFE (Applied Separations), ubicado en la Universidad EAFIT, por medio de CO₂ en condiciones supercríticas ya que no es tóxico, no es inflamable, no es costoso, es químicamente estable, y posee puntos críticos de temperatura y presión relativamente bajos (304.2K y 73.8 bar), además, es ampliamente usado para la extracción de compuestos naturales térmicamente inestables.³⁷ El equipo permite manipular presión, temperatura de extracción, flujo y temperatura de descarga.³⁸ El material vegetal es ubicado en una bolsa de extracción acompañado con fibra de vidrio y perlas de vidrio que permiten una mayor consistencia de la muestra dentro del tanque de extracción, protegen la termocupla de cambios abruptos de presión y permite una mayor interacción entre el CO₂ supercrítico y la muestra. Para la recolección de los extractos se utilizan viales de 5mL y se aseguran con cinta adhesiva protectora.

Diseño y Funcionamiento de SPEED-SFE (Applied Separations). El equipo está conformado por un cilindro de CO₂ (700 psi), una bomba neumática, un regulador de temperatura con termocupla tipo T, un extractor de 1L, una válvula de seguridad, un separador de 0.5L, válvula de la salida del CO₂ y extracto final que cuenta con un regulador de flujo, además, válvulas de aguja y manómetros. El sistema permite manipular diversas variables (presión, temperaturas, y flujo) donde el cambio de estos parámetros puede afectar considerablemente los niveles de rendimiento. Después de colocada la muestra, inmediatamente se comienza el calentamiento. Una vez alcanzada la temperatura deseada dentro

del tanque de extracción, se inicia la presurización haciendo llegar CO₂ al extractor por medio de la bomba, hasta lograr las condiciones de presión que se necesitará para la extracción. Seguidamente se abren las válvulas para dejar que el CO₂ arrastre el material vegetal hasta la obtención del extracto (aceite esencial del material vegetal) mediante la regulación del flujo de extracción. Obteniendo así un extracto en los viales de 5mL puestos en la válvula de salida.

■ INFORMACIÓN DEL AUTOR

Correspondencia del Autor

*E-mail: jimenez.haider@uces.edu.co

Notas

Los autores declaran no tener intereses financieros en competencia.

■ AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer en primer lugar a nuestro tutor, el profesor Erick Meneses quien estuvo al tanto de la investigación en todo momento, a nuestro compañero Emmanuel Roa quien trabajó en varios aspectos iniciales de la investigación, a la Universidad CES por brindarnos los conocimientos necesarios para llevar a cabo todo lo que nos proponemos en el mundo académico, a la Universidad EAFIT por posibilitar la realización de los ensayos en su Laboratorio de Operaciones Unitarias y finalmente queremos agradecer a nuestras familias dado que son el motor que impulsa nuestras vidas y nos permitieron estar donde siempre soñamos.

■ REFERENCIAS

- (1) Martínez M A. Aceites Esenciales. Medellín, Colombia: Universidad de Antioquia; **2003**.
- (2) Eftekhari N, Moghimi A, Mohammadian Roshan N, Saadat S, Boskabady MH. Immunomodulatory and anti-inflammatory effects of hydro-ethanolic extract of *Ocimum basilicum* leaves and its effect on lung pathological changes in an ovalbumin-induced rat model of asthma. *BMC complementary and alternative medicine*. **2019**; 4;19(1):349.
- (3) Siddiqui BS, Bhatti HA, Begum S, Perwaiz S. Evaluation of the antimycobacterium activity of the constituents from *Ocimum basilicum* against *mycobacterium tuberculosis*. *Journal of ethnopharmacology*. **2012**; 144(1):220–2.
- (4) Ebani VV, Nardoni S, Bertelloni F, Pistelli L, Mancianti F. Antimicrobial activity of five essential oils against bacteria and fungi responsible for urinary tract infections. *Molecules (Basel, Switzerland)*. **2018**; 23(7).
- (5) Osei Akoto C, Acheampong A, Boakye YD, Naazo AA, Adomah DH. Anti-inflammatory, antioxidant, and anthelmintic activities of *Ocimum basilicum* (Sweet Basil) fruits. *Journal of Chemistry*. **2020**; 1–9.
- (6) Mossalem HS, Ibrahim AM. The ameliorative potential of the ethanol extract of the plant *Ocimum basilicum* on *Biomphalaria alexandrina* snails exposed to the insecticide Bestacid. *Egyptian Journal of Aquatic Biology & Fisheries*. **2019**; 23(1):161–72.
- (7) Sundararajan B, Moola AK, Vivek K, Kumari BDR. Formulation of nanoemulsion from leaves essential oil of *Ocimum basilicum* L. and its antibacterial, antioxidant and larvicidal activities (Culex quinquefasciatus). *Microbial pathogenesis*. **2018**; 125:475–85.
- (8) Thomidis T, Filotheou A. Evaluation of five essential oils as bio-fungicides on the control of *Pilidiella granati* rot in pomegranate. *Crop Protection*. **2016**; 89:66–71.
- (9) Wei J, Liu Z, Zhao Y, Zhao L, Xue T, Lan Q. Phytochemical and bioactive profile of *Coriandrum sativum* L. *Food Chemistry*. **2019**; 286:260–267.
- (10) Kajal A, Singh R. *Coriandrum sativum* improve neuronal function via

- inhibition of oxidative/nitrosative stress and TNF- α in diabetic neuropathic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. **2020**.
- (11) Gallagher A, Flatt P, Duffy G, Abdel-Wahab Y. The effects of traditional antidiabetic plants on in vitro glucose diffusion. *Nutrition Research*. **2003**; 23(3):413-424.
- (12) Taherian, Abbas Ali y col. "Sistema de opiáceos mediar los efectos antinociceptivos de *Coriandrum sativum* en ratones". *Revista iraní de investigación farmacéutica: IJPR* vol. 11,2 2012; 679-88.
- (13) Emamghoreishi M, Khasaki M, Aazam M. *Coriandrum sativum*: evaluation of its anxiolytic effect in the elevated plus-maze. *Journal of Ethnopharmacology*. **2005**; 96(3):365-370.
- (14) Swati Sahoo, S. Brijesh. Anxiolytic activity of *Coriandrum sativum* seeds aqueous extract on chronic restraint stressed mice and effect on brain neurotransmitters. *Journal of Functional Foods* 68, pages 103884. **2020**.
- (15) María Soledad Gastón, Mariana Paula Cid, Ana María Vázquez, María Florencia Decarlíni, Gabriela I. Demmel, Laura I. Rossi, Mario Leandro Aimar y Nancy Alicia Salvatierra. Efecto sedante de la administración central del aceite esencial de *Coriandrum sativum* y su componente principal linalool en pollitos neonatales. *Pharmaceutical Biology*, **2016**; 54:10, 1954-1961.
- (16) Sathishkumar P, Preethi J, Vijayan R, Mohd Yusoff A, Ameen F, Suresh S et al. Anti-acne, anti-dandruff and anti-breast cancer efficacy of green synthesised silver nanoparticles using *Coriandrum sativum* leaf extract. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. **2016**; 163:69-76.
- (17) Chithra V, Leelamma S. *Coriandrum sativum* — effect on lipid metabolism in 1,2-dimethyl hydrazine induced colon cancer. *Journal of Ethnopharmacology*. **2000**; 71(3):457-463.
- (18) Laribi B, Kouki K, M'Hamdi M, Bettaieb T. Coriander (*Coriandrum sativum* L.) and its bioactive constituents. *Fitoterapia*. **2015**; 103:9-26.
- (19) Msaada K, Jemia M, Salem N, Bachrouch O, Sriti J, Tammar S et al. Antioxidant activity of methanolic extracts from three coriander (*Coriandrum sativum* L.) fruit varieties. *Arabian Journal of Chemistry*. **2017**; 10: S3176-S3183.
- (20) Gallegos Flores I. Actividad antibacteriana de cinco compuestos terpenoides: carvacrol, limoneno, linalool, α -terpineno y timol. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. **2019**.
- (21) Belletti N, Kamdem S, Tabanelli G, Lanciotti R, Gardini F. Modeling of combined effects of citral, linalool and β -pinene used against *Saccharomyces cerevisiae* in citrus-based beverages subjected to a mild heat treatment. *International Journal of Food Microbiology* [Internet]. **2010**; 136(3):283-289.
- (22) Freires, Irlan de Almeida et al. "Aceite esencial de *Coriandrum sativum* L. (Cilantro): actividad antifúngica y modo de acción sobre *Candida spp.*, Y objetivos moleculares afectados en la expresión del genoma completo humano". *PloS un vol.* 9,6 e99086. **2014**.
- (23) Herrera Sandoval L. Evaluación de actividad de componentes de aceites esenciales de plantas colombianas frente a *trypanosoma cruzi* y *leishmania spp.* **2011**.
- (24) Santoro G, Cardoso M, Guimarães L, Mendonça L, Soares M. *Trypanosoma cruzi*: Activity of essential oils from *Achillea*

- millefolium L.*, *Syzygium aromaticum L.* and *Ocimum basilicum L.* on epimastigotes and trypomastigotes. *Experimental Parasitology* [Internet]. **2007**; 116(3):283-290.
- (25) Filip S, Vidović S, Adamović D, Zeković Z. Fractionation of non-polar compounds of basil (*Ocimum basilicum L.*) by supercritical fluid extraction (SFE). *The Journal of Supercritical Fluids*. **2014**; 86:85-90.
- (26) Msaada Kamel, et al. Comparison of Different Extraction Methods for the Determination of Essential oils and Related Compounds from Coriander (*Coriandrum sativum L.*). *Acta Chimica Slovenica*. 59. 803-13. **2012**.
- (27) Fachri BA, Sari P, Yuwanti S, Subroto E. Experimental study and modeling on supercritical CO₂ extraction of Indonesian raw propolis using response surface method: Influence of pressure, temperature and CO₂ mass flowrate on extraction yield. *Chemical Engineering Research & Design: Transactions of the Institution of Chemical Engineers Part A*. **2020**; 153:452–62.
- (28) Devani BM, Jani BL, Balani PC, Akbari SH. Optimization of supercritical CO₂ extraction process for oleoresin from rotten onion waste. *Food & Bioproducts Processing: Transactions of the Institution of Chemical Engineers Part C*. **2020**; 119(Part C): 287–95.
- (29) Romero C, Belisario Y, Blasco M. Extracción del aceite esencial de albahaca (*Ocimum basilicum L.*) con CO₂ supercrítico. Maracaibo, Venezuela; **2004**.
- (30) Tenorio Serrano M. Síntesis de materiales porosos nanoestructurados metalsoporte en CO₂ supercrítico [Doctorado]. Universidad Complutense de Madrid; **2013**.
- (31) Román Páez M, Rivera Narváez C, Cardona Bermúdez L, Muñoz L, Gómez D, Passaro Carvalho C et al. Guía de extracción por fluidos supercríticos: fundamentos y aplicaciones. 1st ed. Rionegro, Antioquia: Servicio Nacional de Aprendizaje - SENA; **2016**.
- (32) Adames M, Mendoza E, Ospina de Nigrinis L. Estudio del aceite esencial de *eucalyptus citriodora bailey*. Bogotá, Colombia: Revista Universidad Nacional; **1983**.
- (33) Laboratorio de análisis instrumental y farmacognosia. Práctica 8: Cromatografía en capa fina y purificación de compuestos por cromatografía en columna. **2017**
- (34) Uribe, C.. Evaluación de la actividad antioxidante de las hojas de *Pentacalia corymbosa* y *Pentacalia nitida* (Asterales: Asteráceae). **2010**.
- (35) JB- Pascual Villalobos M., Ballesta Acosta M., Soler A. Toxicidad y repelencia de aceites esenciales en plagas de almacén del arroz. Estación Sericícola, 30150 La Alberca, Murcia.: Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario,; **2004**.
- (36) Martínez Martínez R, Ortega Cerrilla M, Herrera Haro J, Kawas Garza J, Zárate Ramos J, Soriano Robles R. Uso de aceites esenciales en animales de granja. 44th ed. Caracas, Venezuela: Asociación Interciencia; **2020**.
- (37) Velasco RJ, Villada HS, Carrera JE. Aplicaciones de los Fluidos Supercríticos en la Agroindustria / Applications of Supercritical Fluids in the Agroindustry. *Información tecnológica*. **2007**; 18(1):53–66.
- (38) Applied Separations. Helix SFE system - basic model: Operations manual. Vers.R3.2U. Allentown; **2015**.