



Efecto de solvente y temperatura para la extracción de compuestos fenólicos en hojas de fresa

Magdalena Lizbeth Sailema Ortiz¹

magdaliz_so@hotmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-6092-194X>

Universidad Técnica de Ambato

Ambato-Ecuador

Estefanía Carolina Salazar Garcés

stefisalazar92@gmail.com

<https://orcid.org/0009-0008-7228-0474>

Universidad Técnica de Ambato

Ambato-Ecuador

Ronald Hendry Palacios Duchicela

hendryronald95@gmail.com

<https://orcid.org/0009-0009-7539-0115>

Universitat Politècnica de Catalunya

Barcelona-España

Washington Xavier Carrera Borja

wcarrera3625@uta.edu.ec

<https://orcid.org/0000-0002-9237-7563>

Universidad Técnica de Ambato

Ambato-Ecuador

Cristian Alexander Zambrano Mendoza

cristian.zambrano@iniap.gob.ec

<https://orcid.org/0009-0001-1744-3591>

Iniap Estación Experimental Litoral Sur

Yaguachi-Ecuador

RESUMEN

Los compuestos fenólicos encontrados en las plantas son antioxidantes naturales con beneficios biológicos para los seres humanos. El propósito de este estudio fue investigar cómo el solvente y la temperatura afectan la extracción de compuestos fenólicos en hojas de fresa. Se evaluaron cinco tipos de solventes (agua 100%, etanol 100%, metanol 100%, etanol:agua 75:25 y metanol:agua 75:25) a tres temperaturas (40°C, 50°C y 70°C). La combinación de estos factores fue crucial para alcanzar el objetivo establecido. La cuantificación de los compuestos fenólicos en los extractos se realizó mediante la formación de compuestos de color, utilizando ácido gálico (AG) como estándar. Se empleó el método de Folin Ciocalteu a 760 nm. Se utilizó la técnica de extracción por ultrasonido, que resultó ser eficiente y rápida. Resultó crucial optimizar la temperatura de extracción para lograr una extracción eficiente para preservar la integridad de los compuestos extraídos con un adecuado solvente. Se encontró que la temperatura óptima de extracción fue de 50°C, utilizando la mezcla de etanol:agua 75:25, donde se obtuvieron concentraciones de compuestos fenólicos de 40,84±0,21 mg AG/g hoja seca.

Palabras clave: *compuestos fenólicos; fresa; solvente; temperatura.*

¹ Autor Principal

Effect of solvent and temperature for the extraction of phenolic compounds in strawberry leaves

ABSTRACT

The phenolic compounds found in plants are natural antioxidants with biological benefits for humans. The purpose of this study was to investigate how solvent and temperature affect the extraction of phenolic compounds in strawberry leaves. Five types of solvents (100% water, 100% ethanol, 100% methanol, 75:25 ethanol:water, and 75:25 methanol:water) were evaluated at three temperatures (40°C, 50°C, and 70°C). The combination of these factors was crucial to achieve the established goal. The quantification of the phenolic compounds in the extracts was carried out by means of the formation of colored compounds, using gallic acid (AG) as a standard. The Folin Ciocalteu method was used at 760 nm. The ultrasound extraction technique was used, which turned out to be efficient and fast. It was crucial to optimize the extraction temperature to achieve an efficient extraction to preserve the integrity of the extracted compounds with a suitable solvent. It was found that the optimum extraction temperature was 50°C, using the 75:25 ethanol:water mixture, where concentrations of phenolic compounds of 40.84 ± 0.21 mg AG/g dry leaf were obtained.

Keywords: phenolic compounds; strawberry; solvent; temperature.

Artículo recibido 05 mayo 2023

Aceptado para publicación: 20 mayo 2023

INTRODUCCIÓN

La fresa (*Fragaria x ananassa*) es un fruto altamente consumido por los beneficios en la salud, principalmente por su potencial antioxidante (Cárdenas-Navarro et al., 2019). La investigación sobre fitoquímicos bioactivos se ha centrado principalmente en el fruto, dejando de lado el análisis bioquímico de las hojas, lo cual ha resultado en un bajo aprovechamiento de su potencial como fuente de metabolitos bioactivos. Estos metabolitos podrían ser aprovechados en la creación de productos para los sectores alimenticio, industrial y farmacéutico. Además, se ha demostrado que las hojas de fresa contienen una mayor cantidad de compuestos bioactivos en comparación con el fruto. Por lo tanto, las hojas de fresa podrían ser una valiosa fuente de ácido elágico, un antioxidante bioactivo que se encuentra en cantidades relativamente bajas en la dieta humana, su potencial biomédico ha despertado un interés creciente en la comunidad científica y en la industria de la salud (Salas-Arias et al., 2022).

Los compuestos fenólicos son sustancias que contienen múltiples grupos fenol, conocidas como hidroxibenceno, unidas a estructuras aromáticas o alifáticas (Gimeno, 2004), constituyen parte de los metabolitos secundarios, que se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza y se encuentran en diversos alimentos y plantas, como frutas, verduras, granos enteros y hierbas (Martín Gordo, 2018). La mayoría de estos compuestos son fácilmente accesibles y disponibles para el organismo a través de diferentes procesos mecánicos, enzimáticos y químicos. Sin embargo, durante el proceso de envejecimiento, estos factores pueden cambiar y afectar la absorción de estos compuestos (Cereceres-Aragón et al., 2019).

Los compuestos fenólicos cuantificados en los extractos de las hojas de las plantas son de gran importancia debido a que constituyen un grupo de metabolitos secundarios que se consideran antioxidantes naturales con múltiples beneficios biológicos para el ser humano. Los compuestos fenólicos toman los radicales libres neutralizando especies de oxígeno reactivas, peligrosas y quelantes de iones metálicos (Filipiak, 2001). Por esta razón, estos compuestos han sido objeto de numerosas investigaciones debido a su potencial para promover la salud y prevenir enfermedades. El creciente interés en los compuestos fenólicos es debido a su potencial efecto

positivo contra ciertas enfermedades, principalmente en algunas formas de cáncer y enfermedades coronarias, así como la prevención de enfermedades cardiovasculares y degenerativas (Moreno et al., 2015). Además de su actividad antioxidante, se ha demostrado que estos compuestos tienen beneficios para la salud, como propiedades antiinflamatorias, antimicrobianas y anticancerígenas (Gimeno, 2004).

Es importante tener en cuenta que la absorción y la biodisponibilidad de estos compuestos pueden variar según diversos factores, como la matriz alimentaria, el procesamiento y la interacción con otros nutrientes (Cereceres-Aragón et al., 2019). En la exploración de compuestos bioactivos presentes en las plantas, muchas especies han sido motivo de estudio con el fin de identificar el contenido de compuestos fenólicos con potencial terapéutico. La extracción de estos metabolitos está influenciada por el tipo de solvente utilizado y diversas condiciones como el efecto de la temperatura aplicada durante el proceso de extracción. En el contexto de aplicaciones terapéuticas, la medicina tradicional se centra en el uso de mezclas de etanol y agua como solventes preferidos (Soto-García & Rosales-Castro, 2016).

Los métodos comúnmente usados para la extracción de estos compuestos presentes en plantas invocan la aplicación de solventes de distinta polaridad, con el inconveniente de manejar grandes volúmenes, acompañada de un alto costo de los mismos. La extracción convencional presenta la desventaja de consumir altas cantidades de solvente, material vegetal, consumo energético y requieren largos tiempos de extracción, que pueden provocar la degradación de los compuestos fenólicos (Silva, 2012).

La extracción de compuestos fenólicos está condicionada por la textura y contenido acuoso de material vegetal. Para sustancias de alta y mediana polaridad se utilizan solventes como etanol, acetato de etilo y acetona (Sierra et al., 2018). Existen diferentes técnicas de extracción, estas dependen de las características anteriormente mencionadas. El ultrasonido como técnica de extracción es ampliamente utilizada, puesto que se considera una técnica prometedora para la extracción fenólica debido a su eficiencia y capacidad para preservar las propiedades de estos compuestos. Además de ser una de las técnicas más económicas entre los métodos de extracción

desarrollados. Su aplicación en la industria alimentaria y farmacéutica ha demostrado buenos resultados en la obtención de compuestos fenólicos con fines nutricionales y terapéuticos (Rojas et al., 2019).

La temperatura juega un papel crucial en la extracción, a medida que aumenta la temperatura, se incrementa la cinética de extracción, lo que facilita la transferencia de los compuestos fenólicos desde la matriz vegetal al solvente. Esto se debe a que el calor provoca la expansión y ruptura de las estructuras celulares, facilitando la liberación de los compuestos fenólicos. Sin embargo, es importante tener en cuenta que la temperatura también puede tener efectos negativos en la extracción (Ramón & Gil-Garzón, 2021). Un aumento excesivo de temperatura puede provocar la degradación de los compuestos, especialmente si se superan los límites de estabilidad térmica de los compuestos en cuestión. Por lo tanto, es crucial encontrar un equilibrio entre la temperatura óptima para la extracción eficiente y la preservación de la integridad de los compuestos fenólicos. Además, el efecto de la temperatura puede variar dependiendo de la matriz vegetal y los compuestos fenólicos específicos que se deseen extraer. Algunos compuestos fenólicos pueden ser más sensibles al calor que otros, por lo que es importante determinar la temperatura adecuada para cada caso específico (Sepúlveda & Zapata, 2019).

METODOLOGÍA

Materiales

Balones de aforo de 5 mL, 10 mL, 50 mL y 100 mL, vasos de precipitación (100 y 250 mL), varilla de agitación, espátulas, tubos de microcentrifuga de 2 mL (Eppendorf), pipetas, micropipetas de volumen fijo y volumen variable, probetas (10 y 100 mL), recipiente de vidrio (10 mL), celda de cuarzo de espectrofotómetro, mortero y pistilo de cerámica, gradilla plástica para tubos Eppendorf, parafilm, rotuladores, esferos, lápiz, toallas absorbentes, bolsas herméticas, mascarilla, guantes, cronómetro, cuaderno de notas.

Equipos

Balanza analítica (METTLER TOLEDO XPE204, USA), microcentrífuga refrigerada (BUNSEN FINSEN-R 1800RPM 24088XG, España), Espectrofotómetro UV-VISIBLE (Thermo Scientific Evolution 201, España), refrigeradora -4°C (LG GS65SPP1, Ecuador), estufa (BINDER ED 240L, Alemania), baño ultrasonido (BRANSON 2800, México).

Reactivos

Carbonato de sodio 99,5%, ácido gálico 97,5%, Folin & Cicalteu 2N, metanol, alcohol etílico absoluto, agua Milli-Q.

Metodología para determinar la acción del solvente y temperatura

Se trabajó con hojas de fresa recolectadas en frascos estériles que fueron liofilizados posteriormente, con el fin de conservar su calidad, prolongar la vida útil, preservar los nutrientes y compuestos volátiles, para facilitar su uso en una variedad de aplicaciones alimentarias y no alimentarias.

Las hojas liofilizadas se trituraron en un mortero y posteriormente se procedió a tamizar en una malla N° 60 con la finalidad de obtener un polvo homogéneo y reducir el tamaño de partícula ($250\ \mu\text{m}$), el polvo homogéneo es almacenado en bolsas herméticas para su posterior análisis.

Se toma 0,1 g de polvo de hoja seca de fresa y se coloca en tubos Eppendorf de 2 mL junto con 1 mL de solvente. Luego, se utiliza el método de extracción asistido por ultrasonido a una frecuencia de 40 kHz a tres temperaturas diferentes (40°C , 50°C y 70°C) durante 5 minutos. Después, se centrifuga la muestra durante 5 minutos a una velocidad de 3869 rpm. El líquido sobrenadante se elimina mediante evaporación a 40°C en una estufa durante 60 minutos. El residuo resultante se ajusta a un volumen final de 5 mL con agua Mili-Q. Todo el proceso experimental se repite tres veces para obtener resultados consistentes.

Se utilizaron las siguientes combinaciones de solventes para evaluar su efectividad: metanol puro al 100%, una mezcla de metanol y agua en una proporción de 75:25, etanol puro al 100%, una mezcla de etanol y agua en una proporción de 75:25, y agua pura al 100%.

Cuantificación de compuestos fenólicos totales

Se empleó el método de Folin Ciocalteu, utilizando ácido gálico como estándar de referencia para crear la curva de calibración. Se mezclaron 50 µL del extracto con 100 µL del reactivo Folin-Ciocalteu 2 N. La mezcla se dejó reposar a temperatura ambiente durante 5 minutos, luego se agregó 1 mL de Na₂CO₃ 0,7 M y se ajustó el volumen a 5 mL utilizando agua Milli-Q. Tras una reacción de dos horas en la oscuridad, se midió la absorbancia del color azul obtenido a 760 nm utilizando un espectrofotómetro UV-VIS (Kong et al., 2012). El contenido de compuestos fenólicos se determinó mediante tres repeticiones del experimento, utilizando la Ecuación 1 para comparar directamente la señal de las muestras con la de los patrones de ácido gálico (AG).

$$\text{Ecuación 1} \quad \text{Compuestos fenólicos} = \frac{A_{760} - b_1}{m_1} \times \frac{FD}{g_H}$$

Donde:

A₇₆₀: Absorbancia a 760 nm,

m₁ y b₁: Pendiente e intercepto de la recta de regresión del calibrado con AG.

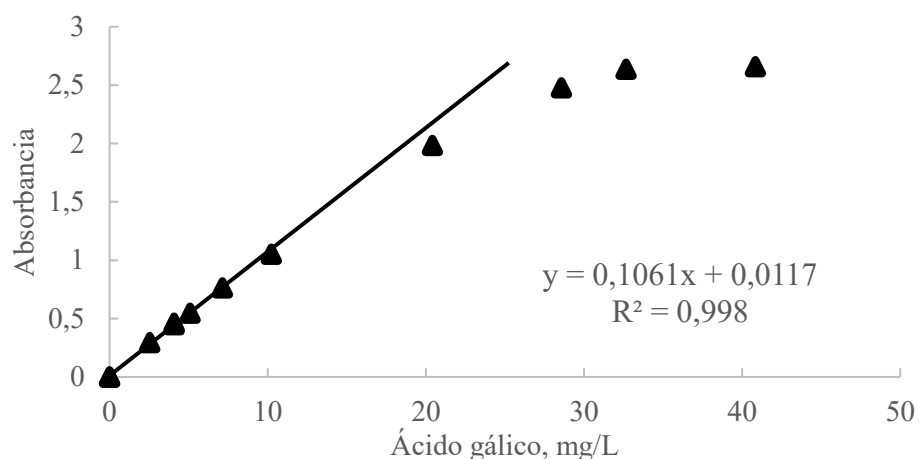
FD: factor de dilución

g_H: gramos de hoja seca

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

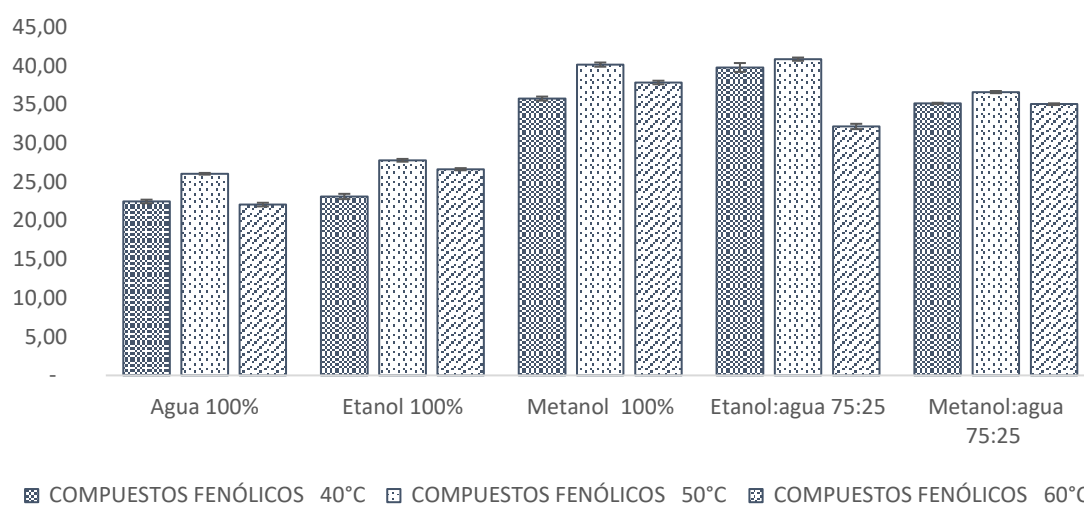
Se creó una curva de calibración utilizando ácido gálico (AG) como estándar. Se preparó una solución de referencia inicial con una concentración de 1000 mg/L y se realizaron diluciones adecuadas para obtener los puntos de calibración. Se observó una relación lineal entre la absorbancia y la concentración de ácido gálico en el rango de 1-7 mg/L. En la Figura 1 se ilustra la curva de calibración obtenida. Utilizando esta línea de regresión, se determinó cuantitativamente el contenido de compuestos fenólicos totales en las muestras y los resultados se expresaron mg de AG/g.

Figura 1. Curva de calibración de ácido gálico.



La elección de un solvente apropiado es un paso fundamental ya que debe mostrar una alta selectividad en el proceso de extracción. Según Soto-García & Rosales-Castro, (2016) la eficiencia tanto en términos cuantitativos como cualitativos de la extracción está altamente influenciada por la polaridad del solvente seleccionado, el solvente debe tener la capacidad de disolver el analito y minimizar la extracción simultánea de otros componentes presentes en la muestra. La extracción con solventes orgánicos es eficiente, pero resulta muy costosa por las grandes cantidades de solvente. Además, la temperatura desempeña un papel significativo en la velocidad de extracción, como se indica en la investigación de Rodríguez-Trejo et al. (2022) donde la temperatura juega un papel importante en la extracción de compuestos fenólicos, ya que puede afectar tanto la eficiencia de la extracción como la calidad de los compuestos obtenidos. Es necesario encontrar la temperatura adecuada que permita maximizar la eficiencia de extracción sin comprometer la integridad y la calidad de los compuestos fenólicos deseados. Para lograr esto, en la presente investigación se trabajó con tres temperaturas para determinar la óptima de extracción: 40°C, 50°C y 70°C.

Figura 2. Efecto del solvente y temperatura sobre el contenido de compuestos fenólicos



La figura 2 muestra los resultados obtenidos al evaluar la influencia del solvente y temperatura. En las extracciones realizadas en el ultrasonido por 5 minutos con diferentes solventes puros y sus respectivas mezclas (agua 100%, etanol 100%, metanol 100%, etanol:agua 75:25 y metanol:agua 75:25). De los solventes utilizados el que mayor capacidad de extracción fue con la mezcla etanol:agua 75:25 seguida del metanol 100% a 50 °C. Mientras que el solvente que menor capacidad de extracción fue con el agua 100%. La baja solubilidad de estos metabolitos en solventes orgánicos absolutos se debe al fortalecimiento de los enlaces de hidrógeno entre los compuestos fenólicos. Según Kårlund et al. (2014), las soluciones de alcohol/agua son más eficientes en la extracción de estos compuestos en comparación con los solventes de un solo componente, posiblemente debido al debilitamiento de los enlaces de hidrógeno en las soluciones acuosas. Por esta razón, el uso combinado de agua y solventes orgánicos puede facilitar la extracción de compuestos que son solubles tanto en agua como en solventes orgánicos. Esto podría explicar por qué los rendimientos obtenidos con etanol:agua 75:25 son mayores que los rendimientos obtenidos con extractos puros de agua o etanol. Estos resultados son consistentes con los reportados por Do et al. (2014). En términos de toxicología, el etanol y el agua se consideran más seguros que el metanol, lo que los convierte en solventes amigables con el ambiente y seguros para el ser humano.

Se investigó el efecto de la temperatura a diferentes niveles: 40°C, 50°C y 70°C. Se determinó que la temperatura óptima de extracción fue a los 50°C, ya que proporcionó una concentración más alta de compuestos fenólicos, demostrando una mayor eficiencia a temperaturas más altas, esto se debe a que, a temperaturas elevadas, la difusión y solubilidad de los analitos en el solvente se incrementan, mejorando la extracción. Sin embargo, la extracción con etanol y agua presentan una eficiencia baja a temperaturas inferiores a 50 °C, por lo que no se logra extraer la cantidad máxima de compuestos. Por otro lado, se encontró que a temperaturas superiores a 50°C se producía la degradación de los compuestos fenólicos. Esto se evidencia en la Figura 2, donde se observa una disminución en la concentración de los compuestos a 70°C, lo cual está en concordancia con los hallazgos de Brglez Mojzer et al. (2016).

Tabla 1 Contenido de compuestos fenólicos extraídos de hojas de fresa

	Temperatura		
	40°C	50°C	70°C
Solvente	mg AG/g hoja seca	mg AG/g hoja seca	mg AG/g hoja seca
Agua 100%	22,47 ± 0,23	26,04 ± 0,11	22,06 ± 0,24
Etanol 100%	23,11 ± 0,34	27,78 ± 0,18	26,63 ± 0,14
Metanol 100%	35,75 ± 0,26	40,14 ± 0,27	37,83 ± 0,23
Etanol:agua 75:25	39,77 ± 0,57	40,84 ± 0,21	32,15 ± 0,34
Metanol:agua 75:25	35,12 ± 0,09	36,59 ± 0,14	35,03 ± 0,11

De los resultados mostrados en la Tabla 1 se puede evidenciar que la temperatura óptima de extracción se da a los 50°C, usando como solvente la mezcla de etanol:agua 75:25, que fue particularmente eficiente en la extracción de compuestos fenólicos, obteniendo concentraciones más altas en comparación con los otros solventes evaluados, que fue de 40,84 ± 0,21 mg AG/g hoja seca. Además, se demostró que la temperatura juega un papel crucial en la extracción de compuestos fenólicos. Sin embargo, a temperaturas demasiado altas, se observó una degradación de los compuestos fenólicos, lo que indica que existe un rango óptimo de temperatura para la extracción eficiente sin afectar la integridad de los compuestos. Estos hallazgos son importantes para desarrollar métodos de extracción más eficientes y optimizar la recuperación de compuestos fenólicos.

CONCLUSIONES

La relación entre la temperatura y el solvente utilizado para la extracción de compuestos fenólicos tiene un impacto significativo en la eficiencia y la concentración de los compuestos obtenidos. Se encontró que una temperatura óptima de extracción, fue 50°C, resultó en una mayor concentración de compuestos fenólicos. Además, se observó que ciertos solventes, como el etanol: agua 75:25 y el metanol 100%, mostraron una mayor capacidad de extracción en comparación con los otros solventes etanol 100%, metanol: agua 75:25 y agua 100%. Esto puede deberse a diferencias en la solubilidad y a las interacciones químicas específicas entre los compuestos fenólicos y los solventes utilizados.

Es importante considerar la naturaleza de los compuestos fenólicos y los objetivos del estudio al seleccionar la combinación óptima de temperatura y solvente. Estos factores pueden variar según el tipo de compuesto y las propiedades químicas específicas de la muestra en estudio. Por lo tanto, es recomendable realizar pruebas preliminares para determinar la mejor relación entre temperatura y solvente para obtener los mejores resultados de extracción de compuestos fenólicos en un contexto particular

La optimización de la relación entre temperatura y solvente es crucial para maximizar la eficiencia y la concentración de compuestos fenólicos extraídos, lo que puede tener implicaciones significativas en aplicaciones posteriores.

LISTA DE REFERENCIAS

- Brglez Mojzer, E., Knez Hrnčič, M., Škerget, M., Knez, Ž., & Bren, U. (2016). Polyphenols: Extraction Methods, Antioxidative Action, Bioavailability and Anticarcinogenic Effects. In *Molecules (Basel, Switzerland)* (Vol. 21, Issue 7). <https://doi.org/10.3390/molecules21070901>
- Cárdenas-Navarro, R., López-Pérez, L., & Lobit, P. (2019). Effect of the N application season and harvest period on the production and quality of strawberry fruits (*Fragaria x ananassa* Duch). *Scientia Agropecuaria*, *10*(3), 337–345. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2019.03.03>
- Cereceres-Aragón, A., Rodrigo-García, J., Álvarez-Parrilla, E., & Rodríguez-Tadeo, A. (2019). Consumption of phenolic compounds in the elderly population. *Nutricion Hospitalaria*, *36*(2), 470–478. <https://doi.org/10.20960/nh.2171>
- Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y. H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, *22*(3), 296–302. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2013.11.001>
- Filipiak, M. (2001). Electrochemical Analysis of Polyphenolic Compounds. *ANALYTICAL SCIENCES*, *17*, 1667–1670.
- Gimeno, E. (2004). Compuestos Fenólicos Un análisis de sus beneficios para la salud. *Ámbito Farmacéutico Nutrición*, *23*(6), 80–84.
- Kårlund, A., Salminen, J. P., Koskinen, P., Ahern, J. R., Karonen, M., Tiilikkala, K., & Karjalainen, R. O. (2014). Polyphenols in strawberry (*Fragaria x ananassa*) leaves induced by plant activators. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *62*(20), 4592–4600. <https://doi.org/10.1021/jf405589f>
- Kong, K. W., Mat-Junit, S., Aminudin, N., Ismail, A., & Abdul-Aziz, A. (2012). Antioxidant activities and polyphenolics from the shoots of *Barringtonia racemosa* (L.) Spreng in a polar to apolar medium system. *Food Chemistry*, *134*(1), 324–332. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.150>
- Martín Gordo, D. A. (2018). Los Compuestos Fenólicos, Un Acercamiento A Su Biosíntesis, Síntesis Y Actividad Biológica. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, *9*(1), 81–104. <https://doi.org/10.22490/21456453.1968>
- Moreno, E., Ortiz, B., & Restrepo, L. (2015). Contenido total de fenoles y actividad antioxidante de pulpa de seis frutas tropicales. *Revista Colombiana de Química*, *43*(3), 41–48.
- Ramón, C., & Gil-Garzón, M. (2021). Efecto de los parámetros de operación de la extracción asistida por ultrasonido en la obtención de polifenoles de uva: una revisión. *TecnoLógicas*, *24*(51), 1–15. <https://doi.org/10.22430/22565337.1822>

- Rodríguez-Trejo, N., Botello-Álvarez, J. E., Jiménez-Islas, H., & Miranda-López, R. (2022). *Efecto del tiempo y temperatura en la extracción acuosa de los compuestos fenólicos totales presentes en la raíz del género Smilax* (Vol. 7).
- Rojas, T., Fuentes, M., Contreras-López, E., Gómez, S., & Muñoz-Jáuregui, A. (2019). EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE LA CÁSCARA DE SANKY (*Corryocactus brevistylus*). *Revista de La Sociedad Química de Perú*, 85(2), 258–268.
- Salas-Arias, K., Salas-Morgan, B., & Calvo-Castro, L. (2022). Potencial bioactivo de los residuos del cultivo de fresa (*Fragaria x ananassa*) en Costa Rica. *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*, 9(2), 55–68. <https://doi.org/10.23850/24220582.4875>
- Sepúlveda, C., & Zapata, J. (2019). Effect of Temperature, pH and Solids Content on Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of *Bixa orellana* L. Extract. *Informacion Tecnologica*, 30(5), 57–66. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642019000500057>
- Sierra, M., Barros, R., Gómez, D., Mejía, A., & Deivis, T. (2018). *PRODUCTOS NATURALES: METABOLITOS SECUNDARIOS Y ACEITES ESENCIALES*. Fundación Universitaria Agraria de Colombia – UNIAGRARIA–. www.entrelibros.co
- Silva, S. (2012). *OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA DE LOS POLIFENÓLES DE LA VAINA DE TARA (Caesalpinia spinosa)*. Universidad de Chile.
- Soto-García, M., & Rosales-Castro, M. (2016). Efecto del solvente y de la relación masa/solvente, sobre la extracción de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de extractos de corteza de *Pinus durangensis* y *Quercus sideroxylla*. *Maderas. Ciencia y Tecnología*, 18(2), 701–714. <https://doi.org/10.4067/s0718-221x2016005000061>