

Uso de aceites esenciales extraídos por medio de fluidos supercríticos para la elaboración de alimentos funcionales

Fecha de recepción: 22/03/2007

Fecha de aceptación: 08/05/07

Angélica Esquivel F. ¹

Pedro Vargas ²

El consumo de alimentos funcionales y la tendencia a productos cada vez más naturales se ha incrementado en los últimos años, dando pie a nuevas investigaciones en el campo de la obtención de aditivos que pueden generar alimentos funcionales.

Palabras clave

Fluidos supercríticos, aditivos alimentarios, extractos naturales.

Key words

Supercritical fluids; food additives; natural extracts.

Resumen

El consumo de alimentos funcionales y la tendencia a productos cada vez más naturales se ha incrementado en los últimos años, dando pie a nuevas investigaciones en el campo de la obtención de aditivos que pueden generar alimentos funcionales. En esta revisión, se discutió sobre la técnica de obtención de extractos naturales conocida como extracción por medio de fluidos supercríticos, se evaluó el método de extracción, las ventajas y desventajas de este, así como las condiciones ideales de extracción de algunos compuestos naturales que se pueden utilizar como ingredientes funcionales debido a su poder

antioxidante; adicionalmente, se revisó el uso que se les está dando a los compuestos extraídos por medio de fluidos supercríticos en la ciencia de alimentos.

Abstract

The consumption of functional foods and the world trend to consume more natural foods have increased in the last years. As a result, more research in food additives as functional foods has been carried out. It will be discussed in this review one technique to obtain natural extracts using critical fluids. The extraction method, its advantages and disadvantages and the ideal conditions to extract different natural compounds that could be used as functional ingredients due to his antioxidant characteristic are discussed, as well as the uses given to this products in the food industry.

Introducción

La investigación científica que se ha llevado a cabo en las últimas décadas

1. Posgrado en Ciencias de Alimentos, Universidad de Costa Rica. San Pedro. Costa Rica. Tel. 207-3504. Correo electrónico: esquivela@sardimar.com.
2. Escuela de Tecnología de Alimentos, Universidad de Costa Rica. San Pedro. Costa Rica. Tel. 207-3469. Correo electrónico: povargas@cariari.ucr.ac.cr.

ha demostrado el papel que desempeñan ciertos componentes químico-nutricionales en la prevención y tratamiento de muchas enfermedades. Esta situación ha provocado un cambio del simple concepto de alimento como fuente de nutrientes, a uno más integral que traduce la potencialidad que los alimentos pueden tener, no solo de nutrir, sino, también, de prevenir y curar enfermedades (Sedó, 2001).

Debido a este cambio, surgen los muy populares alimentos funcionales que se definen como: cualquier alimento en forma natural o procesada, que además de sus componentes nutritivos contiene componentes adicionales que favorecen la salud, la capacidad física y el estado mental de una persona (Alvírez-Morales *et al.*, 2002).

Estos compuestos o ingredientes que dan al alimento la característica de alimento funcional son llamados ingredientes funcionales y pueden encontrarse de manera natural en el alimento o ser agregados como un aditivo, pero ya sea para incrementar su cantidad o adicionar un compuesto nuevo, siempre se prefiere que estos aditivos sean de un origen natural, ya que junto con la búsqueda de alimentos más saludables el consumidor busca siempre los productos más naturales posibles (Herrero *et al.*, 2006).

Para la industria, esta situación representa una oportunidad de crear nuevas líneas de productos, con valor agregado y gran receptividad por parte de los consumidores (Araya & Lutz, 2003), surgiendo así un nuevo campo de investigación en donde especialistas en nutrición y tecnología de alimentos trabajen activamente en formular nuevos productos que brinden las características que el consumidor está buscando (Alvírez-Morales *et al.*, 2002).

Dentro de esta línea de investigación, se ha desarrollado el estudio de nuevos métodos de obtención de aditivos que generen alimentos funcionales y que a la vez sean de origen natural. Dentro de los compuestos funcionales más estudiados, se encuentran

aquellos que se relacionan con la prevención o cura de enfermedades crónicas y cáncer, principalmente los que tienen función antioxidante, tales como los carotenoides y flavonoides (Sedó, 2001). Por lo que muchos de los estudios de extracción de compuestos, tienen como objetivo la obtención de estos antioxidantes por algún método que asegure la pureza y su efectividad.

Los métodos tradicionales de extracción de ingredientes funcionales utilizan cantidades altas de solventes tóxicos, son muy laboriosos y tienen poca selectividad, lo cual no permite obtener los productos naturales que los consumidores están buscando hoy, por lo que la extracción por medio de fluidos supercríticos es una alternativa muy interesante para realizar la obtención y purificación de este tipo de aditivos, ya que permite extraer compuestos muy específicos sin utilizar compuestos tóxicos (Herrero *et al.*, 2006).

El objetivo de la siguiente revisión es dar a conocer la posibilidad de extracción de compuestos que puedan utilizarse como ingredientes funcionales por medio de fluidos supercríticos.

Fluidos supercríticos

El punto crítico se define como la temperatura y la presión a la cual el gas y el líquido son indistinguibles (Palomino, 2003) Como podemos ver en la figura 1, cuando un fluido se somete a condiciones por encima de su punto crítico, se encuentra en estado supercrítico (Herrero *et al.*, 2006) y se conoce como un fluido supercrítico.

En estas condiciones, varias propiedades del fluido se encuentran entre el gas y el líquido. La densidad de un fluido supercrítico es similar a la del líquido y su viscosidad es similar a la del gas (Herrero *et al.*, 2006).

Al presentar el fluido supercrítico propiedades intermedias entre el gas y el líquido, este tiene gran capacidad de

Debido a este cambio, surgen los muy populares alimentos funcionales que se definen como: cualquier alimento en forma natural o procesada, que además de sus componentes nutritivos contiene componentes adicionales que favorecen la salud, la capacidad física y el estado mental de una persona

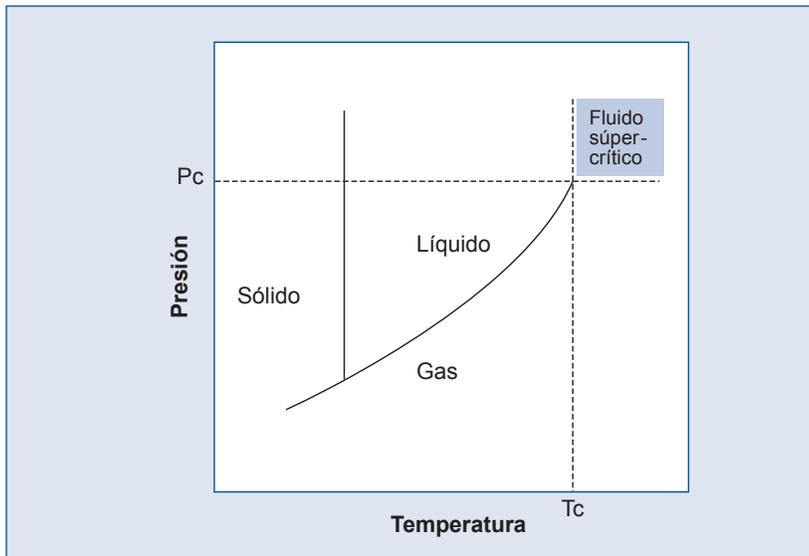


Figura 1. Diagrama de fases
Tomado de Herrero *et al.*, (2006).

disolver compuestos que normalmente no disolvería o disolvería muy poco en el estado líquido o gaseoso. El poder de disolución de un fluido supercrítico varía con su densidad, la cual puede ser alta como el líquido o baja como el gas, dependiendo de pequeñas variaciones en la presión o en la temperatura (Raventós *et al.*, 2002).

Este tipo de fluidos presentan una gran capacidad de extracción, debido a que la acumulación de moléculas alrededor del soluto se produce en su máximo grado cuando las densidades son lo suficientemente bajas como para que predominen los efectos atractivos, ya que las moléculas no sufren exclusión debido a la existencia de mucho espacio libre entre ellas (Fernández & Fernández, 1997).

Uno de los fluidos supercríticos más utilizados en la extracción de compuestos es el dióxido de carbono, debido a que presenta ventajas comparativas, como su bajo costo, fácil obtención, propiedades críticas bajas (7,38 MPa, 31,06 °C) (Gallego y Castañeda, 2004); adicionalmente, también se utiliza el agua

en estado supercrítico para la extracción de compuestos (Guerrero *et al.*, 2003).

Extracción por medio de fluidos supercríticos

La extracción supercrítica es una operación unitaria de transferencia de masa que se efectúa por encima del punto supercrítico del solvente; esta extracción permite controlar y manipular propiedades tales como la difusividad, viscosidad y densidad del fluido mediante pequeños cambios de presión y temperatura, lo conlleva a una variación en la selectividad y el poder de solvencia de este (Gallego & Castañeda, 2003).

La extracción con fluidos supercríticos puede ser realizada en dos modos de operación: extracción selectiva o separación selectiva. La primera envuelve la capacidad de solvatación del fluido utilizado en la extracción por medio de la manipulación de las condiciones de temperatura y presión y/o modificando la naturaleza química del solvente con la adición de un co-solvente. En el segundo método de operación, una separación selectiva se obtiene por medio de la despresurización o de un calentamiento o enfriamiento gradual del sustrato, permitiendo con esto un fraccionamiento controlado de los productos por extraer (Mohamed, 1997).

El proceso de extracción mediante fluidos supercríticos cuenta con cuatro etapas básicas indispensables que son:

- Etapa de presurización: con el fin de alcanzar la presión necesaria del solvente para la extracción que se requiere ya sea por medio de un compresor o de una bomba.
- Etapa de ajuste de temperatura: Remoción o adición de energía térmica ya sea con un intercambiador de calor, baños térmicos o resistencias eléctricas, para llevar el fluido comprimido a la temperatura de extracción requerida.
- Etapa de extracción: Es llevada a cabo en un recipiente extractor a alta

presión, el cual contiene la matriz que será procesada. En esta etapa, el fluido entra en contacto con la matriz y arrastra el soluto deseado.

- Etapa de separación: Es mediante la cual se separa la sustancia extraída del solvente (Gallego y Castañeda, 2004).

En la figura 2 tenemos un diagrama de cómo sería un equipo de extracción con fluidos supercríticos.

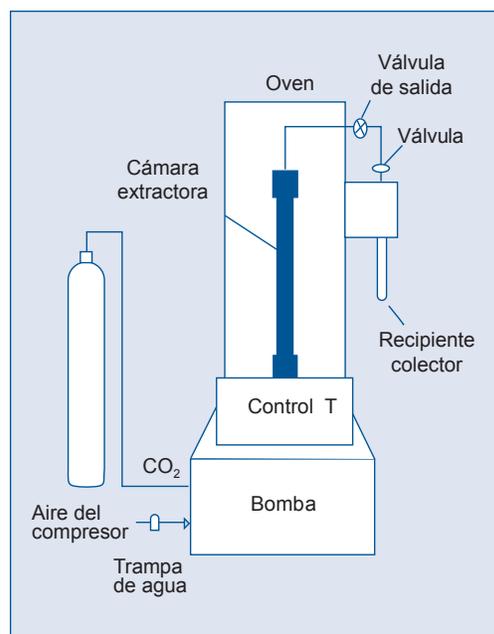


Figura 2. Unidad de extracción de aceites de nueces. Tomado de Alexander *et al.* (1997)

En general, el proceso de extracción supercrítica se inicia cargando el material por extraer en el recipiente de extracción; una vez que este se encuentre listo, se procede a presurizar el solvente que en la mayoría de los casos es CO₂ a una presión por encima de los 7,38 MPa (la presión por utilizar depende del compuesto por extraer), una vez que se tiene el CO₂ presurizado, este se calienta para alcanzar una temperatura por encima del punto crítico (depende del compuesto por extraer). Al tener el solvente

como fluido supercrítico, este se pone en contacto con el soluto o matriz que posee el compuesto que se quiere extraer y una vez que se haya efectuado la extracción se procede a separar el compuesto de interés del solvente.

La separación del compuesto extraído del solvente se puede lograr mediante cambios en la temperatura o presión, generando de esta manera que el compuesto extraído pierda su solubilidad en el solvente y se separe; otro método de separación del compuesto extraído es lavar el solvente para separar el compuesto de interés (Rozzi & Singh, 2002)

En este tipo de extracción, es muy importante controlar los parámetros de presión, temperatura y flujo del solvente, ya que son los que van a determinar cuál es el compuesto que se va a extraer, al modificar estos parámetros, se modifica la selectividad del solvente.

El uso de fluidos supercríticos para realizar extracción tiene varias ventajas sobre los métodos tradicionales de extracción, ya que los solventes utilizados como el CO₂ presentan las siguientes características:

- Son amigos del ambiente, por lo que no se genera contaminación en el proceso.
- No son tóxicos en las cantidades utilizadas.
- No se inflaman.
- Hay gran disponibilidad de ellos.
- Son baratos en grados de pureza elevada.
- No son necesarios procesos de limpieza subsecuentes.
- Son prácticamente inertes desde el punto de vista químico.
- Se separan fácilmente del producto que se quería extraer.
- Se pueden utilizar en un rango amplio de temperaturas, variando de esta manera la selectividad.

- El oxígeno puede ser liberado fácilmente de la matriz del producto para evitar oxidaciones de los compuestos (Bernardo-Gil *et al.*, 2002).
- Tiene un mayor coeficiente de difusión y una menor viscosidad que los líquidos.
- La ausencia de tensión superficial permite una rápida penetración en los poros de matrices heterogéneas, lo que incrementa la eficiencia.
- La selectividad puede ser manipulada durante la extracción, variando los parámetros de presión y temperatura ya que esto afecta la solubilidad de los compuestos.
- El solvente puede ser reciclado de una parte del proceso y ser utilizado nuevamente (Rozzi & Singh, 2002).

Debido a estas razones, se está popularizando el uso de estos compuestos,

pero, a pesar de todas las ventajas que enumeramos anteriormente, también presentan algunas desventajas, como son:

- El equilibrio de fases entre el soluto y el solvente puede ser muy complejo.
- Disuelve pocos compuestos no polares.
- El uso de co-solventes puede alterar la polaridad del CO₂, pero a la vez estos co-solventes pueden quedar en el extracto, requiriendo una operación de separación posterior.
- Las altas presiones dificultan la adición continua de sólidos al extracto.
- Los costos de operación son elevados. (Bernardo-Gil *et al.*, 2002).

Anteriormente, se citaron ventajas y desventajas generales del uso de fluidos supercríticos como solventes para la extracción. Pero para ejemplificar más el por qué es útil la extracción de fluidos supercríticos, en el cuadro 1 se presenta

Cuadro 1. Análisis comparativo de los principales métodos de extracción de aceites esenciales

Método de extracción	Ventajas	Limitaciones
Destilación con vapor	<ul style="list-style-type: none"> • Método industrial y de laboratorio. • Buenos rendimientos en aceite extraído. • Obtención del aceite puro, libre de solvente. • Bajo costo. • Tecnología no sofisticada. 	<ul style="list-style-type: none"> • Procesos colaterales como polimerización y resinificación de los terpenos. • Hidrólisis de los ésteres. • Destrucción térmica de algunos componentes
Extracción con solventes volátiles (éter de petróleo, pentano, hexano)	<ul style="list-style-type: none"> • Uso de temperaturas bajas. • No provoca termo destrucción ni alteración química de los componentes del aceite. • Posibilidad de separación de componentes individuales. 	<ul style="list-style-type: none"> • Costoso. • Contaminante del ambiente. • Riesgo de incendio y explosión. • Difícil de separar completamente el solvente sin alterar la composición del aceite. • Co-extracción de ácidos grasos, ceras y pigmentos.
Extracción con CO ₂ supercrítico	<ul style="list-style-type: none"> • Alto rendimiento. • Ecológicamente limpio. • Fácil retiro y reciclaje del solvente. • Bajas temperaturas de extracción. • No hay alteración química del aceite. • Cambiando parámetros operacionales se puede cambiar la composición del aceite extraído. 	<ul style="list-style-type: none"> • Ácidos grasos, pigmentos y ceras también pueden ser extraídos junto con el aceite esencial. • Alta inversión inicial

Fuente: Tomado de Gil & Sáez (2005).

una comparación realizada entre métodos de extracción tradicionales y la extracción por medio de fluidos supercríticos para la extracción de aceites esenciales.

Como podemos ver en el cuadro 1, la extracción con fluidos supercríticos parece ser una de las mejores opciones para extraer aceites esenciales que pueden ser utilizados como ingredientes funcionales; pero qué pasa con las propiedades funcionales de los compuestos extraídos por medio de esta metodología. Para evaluar si los aceites esenciales extraídos por medio de fluidos supercríticos pueden ser utilizados para la elaboración de alimentos funcionales, es necesario evaluar la composición final del compuesto extraído y si este mantiene la capacidad de ser un ingrediente funcional.

Ingredientes funcionales extraídos por medio de fluidos supercríticos

Se han realizado diversos estudios sobre la extracción de ingredientes funcionales por medio de fluidos supercríticos, en los cuales se han realizado variaciones en los parámetros de presión, temperatura y flujo de solvente, para de esta manera modificar la selectividad del solvente y determinar cuáles son las condiciones ideales para extraer solamente los compuestos que poseen características antioxidantes. En

el cuadro 2 se presentan los parámetros reportados en algunos de estos estudios.

Además de los parámetros que se presentaron en el cuadro 2, se ha estudiado cuales son los compuestos específicos que se logran extraer mediante esta técnica, su grado de pureza, poder antioxidante y algunas otras características importantes que afectan este método de extracción. Algunos de los aspectos más importantes que se han reportado en los estudios se presentan a continuación.

Extractos de romero

Mediante la extracción por medio de fluidos supercríticos, se logró obtener los compuestos antioxidantes que se presentan en el romero (carnosol, ácido carnosito, rosmanol, epirosmanol, rosmadial, epirosmanol y metilcarnosato) y se encontró que estos extractos poseen una alta cantidad de compuestos activos, pero también algunas impurezas, por lo que es necesario un método de separación e identificación posterior, como lo es la electroforesis capilar (Crego *et al.*, 2004) o el uso de HPLC (Ibáñez *et al.*, 2000).

En los estudios realizados sobre la extracción de compuestos del romero y su poder antioxidante, se ha encontrado que el secado inicial de la muestra tiene una gran influencia en la capacidad antioxidante de los extractos y que mediante la

Cuadro 2. Condiciones ideales de extracción de ciertos compuestos por medio de fluidos supercríticos

Compuesto extraído	Solvente	Condiciones de extracción			Referencia
		Presión MPa	T °C	Flujo	
Extracto de romero (antioxidantes)	CO ₂	10 - 16	37 - 47	-	Ibáñez <i>et al.</i> , 1999
Carotenoides de paprika	CO ₂	>50	100	25 kg/h	Ambrogio <i>et al.</i> , 2002
Extracto de orégano (antioxidantes)	CO ₂ / 4% etanol	25	40	-	Cavero <i>et al.</i> , 2006
Vitamina E de germen de trigo	CO ₂	34,5	43	1,7 mL/min	Ge <i>et al.</i> , 2002
Esteroles y tocoferoles del aceite de oliva	CO ₂	20	40	2 L/h	Ibáñez <i>et al.</i> , 2002
Flavonoides del jugo de naranja	CO ₂	16	40	2400 mL/h	Señorans <i>et al.</i> , 2001

Los antioxidantes presentes en el jugo de naranja que se han extraído por medio de una extracción con CO₂ supercrítico han sido estudiados. Estos estudios demostraron que los compuestos que se encuentran principalmente en estos extractos son del tipo flavonoide como las flavononas: hesperidina, narirutina y naringina y las flavonas, como lo son sinensetina y nobiletina y 3, 5, 6, 7, 8, 3', 4' heptametoxiflavona, las cuales tienen una importante función en la salud humana. (Señoráns et al., 2001)

técnica de extracción por medio de CO₂ supercrítico, se logra extraer la mayoría de los compuestos fenólicos con poder antioxidante sin que estos se hayan degradado por el proceso; se encontró además que al variar las condiciones de extracción, se varía la cantidad de ácido carnosito, carnosol y metilcarnosato, lo cual genera una diferencia en el poder antioxidante del extracto (Señoráns *et al.*, 2000).

Todo esto nos reafirma que en el caso del romero es posible la extracción de los compuestos antioxidantes por medio de la extracción con fluidos supercríticos y que estos se pueden utilizar como aditivos en la industria alimentaria, ya que poseen un gran poder antioxidante y no presentan residuos de solventes.

Adicionalmente, en estos extractos naturales también se ha utilizado la extracción por medio de fluidos supercríticos para realizar su purificación como es el uso de dióxido de carbono para desaromatizar los extractos obtenidos por métodos tradicionales, alcanzando hasta un 90% de desaromatización, sin afectar las propiedades antioxidantes del compuesto (López-Sebastián *et al.*, 1998), lo cual es una ventaja adicional para usar este tipo de compuestos en alimentos sin afectar su sabor.

Extractos de orégano

El uso de extractos de hojas de orégano como fuentes de antioxidantes naturales ha sido estudiado, para de esta manera poder evaluar la sustitución de antioxidantes sintéticos como son el BHT y BHA. En el estudio realizado por Cavero *et al.*, (2006), se variaron condiciones de densidad del CO₂ utilizado como solvente junto con etanol, y se obtuvo que los compuestos antioxidantes (principalmente flavona-1) se separaron con las densidades más altas del solvente y presentaron una inhibición del β-caroteno en pruebas *in vitro* de hasta un 72% (Cavero *et al.*, 2006), lo cual comprueba que por este método se pueden

extraer compuestos antioxidantes con alta actividad que pueden ser utilizados como aditivos en otros alimentos ya que estos son bastante inodoros y de origen natural.

Flavonoides del jugo de naranja

Los antioxidantes presentes en el jugo de naranja que se han extraído por medio de una extracción con CO₂ supercrítico han sido estudiados. Estos estudios demostraron que los compuestos que se encuentran principalmente en estos extractos son del tipo flavonoide como las flavononas: hesperidina, narirutina y naringina y las flavonas, como lo son sinensetina y nobiletina y 3, 5, 6, 7, 8, 3', 4' heptametoxiflavona, las cuales tienen una importante función en la salud humana. (Señoráns *et al.*, 2001).

Adicionalmente, se encontró que mediante la técnica de extracción por medio de fluidos supercríticos, se pueden modificar las condiciones de extracción y obtener un compuesto antioxidante muy puro de alto poder antioxidante o una mezcla de compuestos antioxidantes con propiedades sinérgicas (Señoráns *et al.*, 2001); esto permite fácilmente seleccionar el compuesto se que necesita para nuestros producto y direccionar la extracción hacia este, para obtener al final un ingrediente funcional con alta pureza y gran poder antioxidante (Simó *et al.*, 2002).

Tocoferoles y vitamina E

Se estudió la extracción de la vitamina E y los tocoferoles del germen de trigo mediante el uso de CO₂ supercrítico y se pudo concluir que la extracción mediante este método era mucho más rápida que la extracción tradicional con *soxhlet*; además, se encontró que los compuestos extraídos presentaban una mayor calidad, no tenían residuos químicos del solvente, ni hubo deterioro en los compuestos sensibles al calor; por lo que la vitamina E y los tocoferoles extraídos del germen de trigo por esta técnica pueden ser utilizados en la industria alimentaria o en productos para la salud (Ge *et al.*, 2002).

Se ha estudiado también la extracción de vitamina E y tocoferoles del aceite de oliva utilizando CO₂ supercrítico, obteniendo un máximo de extracción de vitamina E de 53,6%, la cual puede ser utilizada como ingrediente para fortificación logrando de esta manera alimentos funcionales (Ibañez *et al.*, 2002).

Usos de compuestos extraídos por medio de fluidos supercríticos como ingredientes funcionales

Son muchos los productos que se están extrayendo actualmente por medio de la extracción con fluidos supercríticos, pero no todos estos extractos son utilizados en alimentos como ingredientes funcionales. En la figura 3 podemos observar cómo el mayor porcentaje de las aplicaciones que se tienen hoy de las sustancias obtenidas por medio de extracción con fluidos supercríticos está en el campo de los sabores y los productos naturales y le sigue la extracción de aceites y aceites esenciales, los cuales se pueden relacionar

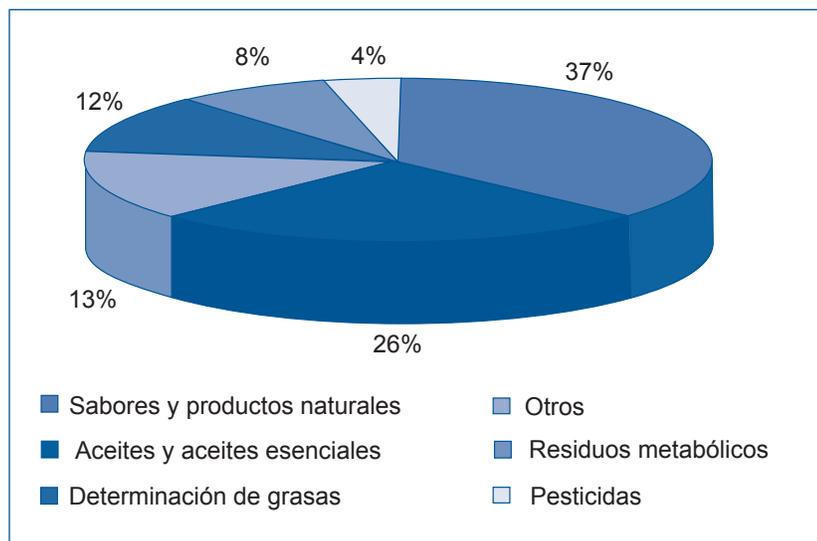


Figura 3. Representación gráfica de las aplicaciones de la extracción con fluidos supercríticos en la ciencia de alimentos.

Tomado de Herrero *et al.*, 2006.

con alimentos funcionales si estas sustancias poseen alguna característica apropiada para que se puedan utilizar como ingredientes funcionales.

Algunos ejemplos de extractos naturales que se utilizan como ingredientes funcionales en la industria alimentaria son los antioxidantes naturales extraídos por medio de CO₂ supercrítico que se utilizan para diversos productos cárnicos, algunos de estos son los extractos de romero y los tocoferoles (Grün *et al.*, 2006).

Estos antioxidantes muchas veces se utilizan en combinación con otros compuestos para mejorar la funcionalidad del alimento, sobre este tema se puede mencionar el uso de antioxidantes de romero junto con ácidos grasos omega 3 en productos cárnicos, brindando, de esta manera, los beneficios del omega 3 y de un extracto antioxidante natural que se extrajo bajo condiciones no oxidantes como lo es la extracción de fluidos supercríticos (Palanca *et al.*, 2006).

Algunas de estas combinaciones ya se encuentran disponibles y se encuentran patentadas como es el caso del producto *Frialvida*®, el cual consiste en un producto elaborado a base de ácidos grasos omega 3 y 6 y un antioxidante de romero, elaborado por medio de extracción con fluido supercrítico, para ser utilizado principalmente en compuestos cárnicos (Palanca *et al.*, 2006).

Otra aplicación que ya se tiene patentada actualmente es la extracción de vainillina, la cual lleva un proceso microbiológico y otro de extracción por medio de fluidos supercríticos, logrando muy buenos resultados (Helad *et al.*, 2006).

Conclusión

El método de extracción conocido como extracción por medio de fluidos supercríticos es un método muy interesante debido a que permite tener una alta selectividad en la

extracción de compuestos, evita la presencia de residuos de solventes tóxicos y no daña térmicamente los compuestos, permitiendo, de esta manera, extraer compuestos que mantienen sus propiedades funcionales, que pueden ser utilizados como aditivos para la elaboración de los muy populares alimentos funcionales. Diversos estudios han demostrado que la funcionalidad y la pureza de los productos obtenidos por medio de una extracción supercrítica son de mejor calidad y tienen un gran poder antioxidante.

Bibliografía

- Alexander, W., Brusewitz, G. & MANESS, N. 1997. "Pecan oil recovery and composition as affected by temperature, pressure, and supercritical CO₂ flow rate". *Journal of Food Science*. 62 (4): 762-766.
- Alvidrez-Morales, A., Gonzalez-Martínez, B. & Jiménez Salas, Z. alialvidrez@hotmail.com 2002. Tendencias en la producción de alimentos: alimentos funcionales. Revista de salud pública y nutrición. 3 (3). INTERNET. http://www.respyn.uanl.mx/iii/3/ensayos/alimentos_funcionales.html
- Ambrogi, A., Cardarelli, D. & Eggers, R. 2002. "Fractional extraction of paprika using supercritical carbon dioxide and on-line determination of carotenoids". *Journal of Food Science*. 67 (9): 3236-3241.
- Araya, H. & Lutz, M. haraya@machi.med.echile.cl 2003. "Alimentos funcionales y saludables". *Rev. Chil. Nutr.* 30 (1). Internet. <http://www.scielo.cl>
- Bernardo-Gil, G., Ribeiro, A & Esquivel, M. 2002. "Produção de extractos para a indústria alimentar: uso de fluidos supercríticos". *Boletín de biotecnología*. (73): 14-21.
- Cavero, S., García-Risco, M., Marín, F., Jaime, L., Santoyo, S., Señorans, J., Reglero, G. & Ibañez, E. 2006. "Supercritical fluid extraction of antioxidant compounds from oregano, chemical and functional characterization via LC-MS and in Vitro assays". *Journal of supercritical fluids*. 38: 62-69.
- Crego, A., Ibañez, E., García, E., Rodríguez de Pablos, R., Señorans, F., Reglero, G. & Cifuentes, A. 2004. "Capillary electrophoresis separation of rosemary antioxidants from supercritical water extracts". *Eur. Food Res. Technol.* 210: 549-555.
- Fernández, D. & Fernández, R. 1997. "Fluidos supercríticos". *Ciencia hoy*. 8 (43) INTERNET. <http://www.cienciahoy.org.ar/hoy43/fluid3.htm>
- Gallego, I. & Castañeda, D. 2004. *Diseño conceptual de un sistema de extracción supercrítica, a escala banco, utilizando dióxido de carbono como solvente*. Universidad de EAFIT. Resumen de los trabajos de grado desarrollados en ingeniería de procesos durante el año 2003. Medellín. pp. 46-53.
- Ge, Y., Ni, Y., Yan, H., Chen & CAI, T. 2002. "Optimization of supercritical fluid extraction of natural vitamin E from wheat germ using response surface methodology". *Journal of food science*. 67 (1): 239-243.
- Gil, E & Sáez, A. (egil@eafit.edu.co). 2005. *Evaluación a escala piloto del proceso industrial para la obtención de aceite esencial de cardamomo, bajo la filosofía cero emisiones*. Universidad Eafit. Medellín. INTERNET: <http://www.eafit.edu.co/EafitCn/Investigacion/Cuadernos/Cuadernos>
- Grün, I., Ahn, J., Clarke, A. & Lorenzen, C. 2006. "Reducing oxidation of meat". *Food technology*. 01: 36-43.
- Guerrero, M., Albert, C., Palomer, A. & Guglietta, A. 2003. "Drying in Pharmaceutical and biotechnological Industries". *Food Sci. Tech.* Int. 9 (3): 0237-0243.
- Heald, S., Myers, S., Robbins, K., Walford, T. & Hill, C. 2006. *Preparation of vanillin from microbial transformation media by extraction by means supercritical fluids or gases*. European Patent office. INTERNET: <http://ep.espacenet.com>
- Herrero, M., Cifuentes, A. & Ibañez, E. 2006. "Sub- and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: plants, food by products, algae and microalgae". *A review. Food chemistry* 98: 136-148.
- Ibañez, E., Oca, A., de Murga, G., López Sebastián, S., Tabera, J. & Reglero, G. 1999. "Supercritical fluid extraction and fractionation of different reprocessed rosemary". *J. Agri. And Food Chem.* 47:1400-1404.
- Ibañez, E., Cifuentes, A., Crego, A., Señorans, F., Cavero, S. & Reglero, G. 2000. "Combined use of supercritical fluid extraction, micellar electro kinetic chromatography for the analysis

- of antioxidants from rosemary". *J. Agric. Food Chem.* 48: 4060-4065.
- Ibáñez, E., Hurtado, A., Señoráns, F. & Reglero, G. 2002. "Concentration of sterols and tocopherols from olive oil with supercritical carbon dioxide". *JAOCS*. 79 (11): 1-6
- Lopéz Sebastián, S., Ramos, E., Ibáñez, E., Bueno, J., Ballester, L., Taber, J., Reglero, G. 1998. "Dearomatization of antioxidant Rosemary extracts by treatment with supercritical carbon dioxide". *J. Agric. Food Chem.* 46: 13-19
- Mohamed, R. 1997. "Extração e fracionamento de productos de ocorrência natural con fluidos supercriticos". *Ciência y tecnologia de alimentos*. 17 (4). Internet. [http// www. scielo. br](http://www.scielo.br)
- Palanca, V., Rodriguez, E., Señoráns, J. & Reglero, G. 2006. "Bases científicas para el desarrollo de productos cárnicos funcionales con actividad biológica combinada". *Nutrición hospitalaria*. 21(2):199-202.
- Palomino, A. alfpalomino@hotmail.com 2003. *Construcción modular de un equipo de extracción supercrítica de aceites esenciales y avances en el modelo matemático*. Consejo Superior de investigaciones. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Boletín 50. INTERNET. [http//www. csi. unimsm. edu. pe](http://www.csi.unimsm.edu.pe).
- Raventós, M., Duarte, S. & Alarcón, R. 2002. "Application and possibilities of supercritical CO₂ extraction in food processing industry": *An overview. Food Sci. Tech. Int.* 8 (5):0269-0284.
- Rozzi, N. & Singh, R. 2002. "Supercritical fluids and the food industry". *Comprehensive reviews in food science and food safety*. 1: 33-44.
- Sedó, P. psedo@cariari.ucr.ac.cr 2001. "Alimentos funcionales: Análisis general acerca de las características químico-nutricionales, desarrollo industrial y legislación alimentaria". *Rev. costarric. salud pública*. 10 (18-19) Internet. [http//www. scielo. sa. cr](http://www.scielo.sa.cr)
- Señoráns, F., Ibáñez, E., Cavero, S. Tabera, J. & Reglero, G. 2000. "Liquid chromatographic-mass spectrometric analysis of supercritical fluid extracts of rosemary plants". *Journal of chromatography*. 870: 491-499.
- Señorans, F., Ruíz Rodríguez, A., Cavero, S., Cifuentes, A., Ibáñez, E. & Reglero, G. 2001. "Isolation of antioxidants compounds from orange juice by using countercurrent supercritical fluid extraction". *Journal of agricultural food chemistry*. 49: 6039-6044.
- Simó, C., Ibáñez, E., Señorans, F., Barbas, C., Reglero, G. & Cifuentes, A. 2002. Analysis of antioxidants from orange juice obtained by countercurrent supercritical fluid extraction, using micellar electrokinetic cromatography and reverse-phase liquid cromatography. *Journal of agricultural and food chemistry*. 50: 6648-6652.