

---

## EXTRACCIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS DE *ROSMARINUS OFFICINALIS L.* MEDIANTE LA ASISTENCIA SIMULTANEA DE ULTRASONIDO-MICROONDAS

### EXTRACTION OF SECONDARY METABOLITES FROM *ROSMARINUS OFFICINALIS L.* THROUGH THE SIMULTANEOUS ASSISTANCE OF ULTRASOUND-MICROWAVES

Yesenia Damaris Franco Aguirre<sup>1</sup>, Aidé Sáenz Galindo<sup>1\*</sup>, Claudia M. López Badillo<sup>1</sup>, Adalí O. Castañeda Facio<sup>1</sup>, Raúl Rodríguez Herrera<sup>1</sup>, y Sandra Cecilia Esparza González<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila, Blvd. Venustiano Carranza y José Cárdenas Valdés, S/N, C.P. 25294, Saltillo, Coahuila, México.

<sup>2</sup> Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Odontología, Adolfo López Mateos, S/N, C.P. 2512, Saltillo, Coahuila, México.

E-mail: [aidesaenz@uadec.edu.mx](mailto:aidesaenz@uadec.edu.mx)

Received: September 29, 2022; Revised: October 31, 2022; Accepted: November 01, 2022

---

#### Resumen

En múltiples investigaciones se han empleado los metabolitos secundarios extraídos de *Rosmarinus Officinalis L.* para innumerables aplicaciones, debido a que contiene propiedades de gran interés como capacidad antioxidante, antifúngica, anticancerígena y antibacteriana, por mencionar algunas. No obstante, existen diversas metodologías para la extracción de este tipo de metabolitos, sin embargo, muchas de ellas resultan ser ineficientes ya que presentan tiempos de extracción considerables, bajos rendimientos y altos costos. En este trabajo se desarrolló una metodología de extracción simultánea mediante la asistencia de Ultrasonido-Microondas para la obtención de metabolitos secundarios de hojas secas de *Rosmarinus Officinalis L.* empleando un reactor Ultrasonic Microwave Cooperative Workstation modelo XO-SM400 y utilizando como disolvente etanol al 96%. Mediante esta técnica se logró reducir considerablemente el tiempo de extracción y se obtuvo un rendimiento del 24.32%, siendo este en promedio 6.26% mayor que los resultados obtenidos por técnicas convencionales. Además, mediante FTIR-ATR y HPLC-MS se observó que esta metodología permite extraer compuestos que son de gran interés pertenecientes a las familias de los flavonoides, polifenoles y ácidos carboxílicos en donde se destaca el ácido rosmarínico y (+)-Galocatecol. Se llevaron a cabo, pruebas de susceptibilidad de difusión de disco de Kirby-Bauerse para medir la actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*. La susceptibilidad de la prueba fue exitosa en todos los extractos logrando obtener un porcentaje de inhibición mayor mediante la metodología simultánea alcanzando un halo de inhibición de 29 mm de diámetro. Finalmente, mediante la técnica de DPPH, se obtuvo un porcentaje de inhibición antioxidante del 69.13%. Se concluye que la metodología simultánea de ultrasonido-microondas, es una alternativa para obtener un porcentaje mayor de extracto, en menor tiempo y que además presenta capacidad antioxidante y antibacteriana superior a los extractos obtenidos por metodologías convencionales.

**Palabras clave:** Extracción, *Rosmarinus Officinalis L.*, Ultrasonido, Microondas, Asistencia simultánea.

---

## Abstract

In multiple investigations, the secondary metabolites extracted from *Rosmarinus Officinalis L.* have been used for innumerable applications, because it contains properties of great interest such as antioxidant, antifungal, anticancer and antibacterial capacity, to name a few. However, there are various methodologies for the extraction of this type of metabolites, but many of them turn out to be inefficient since they present considerable extraction times, low yields and high costs. In this work, a simultaneous extraction methodology was developed using the assistance of Ultrasound-Microwaves to obtain secondary metabolites from dry leaves of *Rosmarinus Officinalis L.* using an Ultrasonic Microwave Cooperative Workstation model XO-SM400 reactor and using 96% ethanol as solvent. Using this technique, the extraction time was considerably reduced and a yield of 24.32% was obtained, this being on average 6.26% higher than the results obtained by conventional techniques. In addition, by means of FTIR-ATR and HPLC-MS it was observed that this methodology allows the extraction of compounds that are of great interest belonging to the families of flavonoids, polyphenols, and carboxylic acids, where rosmarinic acid and (+)-Galocatechol stand out. Kirby-Baurse disc diffusion susceptibility tests were performed to measure antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*. The susceptibility of the test was successful in all the extracts, obtaining a higher percentage of inhibition by the simultaneous methodology, reaching an inhibition halo of 29 mm in diameter. Finally, by means of the DPPH technique, a percentage of favorable antioxidant inhibition of 69.13% was obtained. It is concluded that the simultaneous ultrasound-microwave methodology is an alternative to obtain a higher percentage of extract, in less time and that it also has antioxidant and antibacterial capacity superior to the extracts obtained by conventional methodologies.

**Keywords:** Extraction, *Rosmarinus Officinalis L.*, Ultrasound, Microwave, Simultaneous assistance.

## Introducción

Las plantas son una fuente invaluable de nuevas moléculas biológicamente activas debido a que producen diversos metabolitos secundarios, muchos de los cuales presentan actividad antifúngica y antibacterial, entre otras (Jain et al., 2019).

*Rosmarinus Officinalis L.*, mejor conocido como “romero” es un arbusto perennifolio aromático mediterráneo, de hasta 3 m de altura que puede crecer y reproducirse en diversas condiciones de clima y suelo por lo que se puede encontrar en una abundante variación morfológica y bioquímica (por ejemplo, hábito de crecimiento, tamaño de la hoja, tamaño y color de la flor, compuestos volátiles) que ha sido ampliamente cultivado desde la antigüedad con fines medicinales, culinarios y ornamentales (Hammer et al., 2020). Mediante diversos análisis fitoquímicos han identificado la presencia de 28% de terpenos y 24% de fenoles en distintas muestras de *Rosmarinus Officinalis L.* (Pardo et al., 2022). Existen más de 67 compuestos descritos que han sido encontrados en los extractos de *Rosmarinus Officinalis L.*, pertenecientes a familias tales como monoterpenoides, monoterpenos, sesquiterpenos, alcoholes, cetonas, monoterpenos oxigenados y diterpenoides, de los cuales se destacan la presencia de ácido rosmarínico, limoneno. Eucaliptol,  $\beta$ -cariofileno, alcanfor,  $\alpha$ -pineno y  $\alpha$ -terpineol (Ali et al., 2020).

Diversas investigaciones han demostrado las propiedades antioxidantes que poseen los metabolitos secundarios de *Rosmarinus Officinalis L.* las cuales son incluso mayores que las obtenidas con antioxidantes artificiales tales como BHA, BHT y galato de propilo (Nieto et al., 2018). Por otro lado, el extracto de hoja de *Rosmarinus Officinalis L.* posee actividad antibacterial ya que afecta a la membrana celular de las bacterias, por lo que la actividad citotóxica afecta directamente a la fase mitótica de las bacterias Gram positivas y Gram negativas. Por destacar, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.* y *Staphylococcus aureus*, estos microorganismos son susceptibles a los componentes del extracto de romero (Centeno et al., 2010). Por lo tanto, los compuestos bioactivos del romero destacan por sus propiedades biológicas específicas que resultan de gran interés para distintas aplicaciones industriales (Pizani et al., 2022).

Se han reportado diferentes metodologías de extracción mediante procesos físicos, químicos y microbiológicos para la obtención de metabolitos del *Rosmarinus Officinalis L.*, por ejemplo: destilación por arrastre de vapor, arrastre por disolventes, fluidos supercríticos etc. No obstante, estas metodologías presentan diversas desventajas como el tiempo de extracción, el costo, el impacto ambiental y la toxicidad de los disolventes empleados. (Camargo, 2021). Recientemente el desarrollo de técnicas de extracción optimizadas y amigables con el medio ambiente han tomado importancia, como lo es la

asistencia de ultrasonido (Dogan et al., 2019) y microondas (Oskar et al., 2019) las cuales han demostrado en múltiples investigaciones, compensar muchas de las deficiencias antes mencionadas, proporcionando una reducción considerable de tiempo, costos e impactos ambientales y además un aumento en la extracción de compuestos (Alirezalu et al., 2020). Por tal motivo es de gran importancia el desarrollo de alternativas para la obtención de los extractos naturales (Flores et al., 2020) como es el uso de tecnologías híbridas de ultrasonido-microondas.

Es por eso por lo que se propone el desarrollo de una nueva alternativa para la obtención de extractos de *Rosmarinus officinalis L.* empleando tecnologías híbridas de ultrasonido-microondas con el objetivo de incrementar los beneficios que nos han traídos estas técnicas por separado.

finalmente dejarlo secar a temperatura ambiente hasta obtener un extracto sólido.



Figura 1. Ultrasonic Microwave Cooperative Workstation modelo XO-SM400

### Sección Experimental

De forma previa, durante el otoño se cosecharon hojas de *Rosmarinus Officinalis L.* las cuales se dejaron secar a temperatura ambiente por 15 días para finalmente triturarlas en un molino. Posteriormente se realizaron extracciones etanólicas empleando 100 g de materia orgánica en 700 ml de etanol al 96% por distintas metodologías las cuales se especifican en la Tabla 1.

Tabla 1. Extractos obtenidos de *Rosmarinus Officinalis L.*

Muestra	Tipo de extracción
RUM	Simultanea ultrasonido-microondas
RU	Asistencia de ultrasonido
RM	Asistencia de microondas
RTA	Agitación a temperatura ambiente

La extracción se llevó a cabo empleando un reactor híbrido (Ultrasonic Microwave Cooperative Workstation modelo XO-SM400) (Figura 1) con asistencia de sonoquímica por 30 minutos y de manera simultánea la asistencia de ondas microondas con una potencia de 800 w en una temperatura controlada de 40°C. A continuación, se filtró y evaporó el solvente con un rotavapor para

Para llevar a cabo la caracterización primeramente se realizó un análisis mediante espectroscopía infrarroja (FTIR) empleando un equipo marca Perkin-Elmer, mediante Attenuated Total Reflectance (ATR), las muestras fueron analizadas sin ningún tipo de tratamiento previo, trabajando en un intervalo de 4500 a 580  $\text{cm}^{-1}$ , con 2  $\text{cm}^{-1}$  de resolución, con 32 adquisiciones.

Posteriormente se llevó a cabo la caracterización mediante cromatografía líquida de alta resolución de fase inversa en un sistema Varian HPLC que incluye un muestreador automático acoplado a un espectrómetro de masas (MS) con trampa de iones de cromatografía líquida y equipado con una fuente de iones de electropulverización (ESI). Las muestras (5  $\mu\text{L}$ ) se inyectaron en una columna Denali C18. Los eluyentes fueron ácido fórmico (0,2 %, v/v; disolvente A) y acetonitrilo (disolvente B). Se aplicó el siguiente gradiente: inicial, 3% B; 0–5 min, 9 % B lineal; 5-15 min, 16% B lineal; 15–45 min, 50% B lineal. El caudal se mantuvo a 0,2 ml/min y la elución se controló a 245, 280, 320 y 550 nm. Los parámetros de la fuente de iones fueron: voltaje de pulverización de 5,0 kV y voltaje y temperatura del capilar de 90,0 V y 350 °C, respectivamente. Finalmente, los datos se recopilaron y procesaron utilizando el software MS Workstation (V 6.9).

Una vez caracterizados, se midió la capacidad antioxidante, por lo que previamente se preparó el radical DPPH a una concentración de 60  $\mu\text{M}$ , en solución etanólica. Se utilizaron los diferentes

extractos en solución etanólica en una concentración de 1:100. Se empleó como blanco de lectura etanol al 96% y como control una solución de DPPH con etanol al 96%. En un tubo de ensayo se añadieron 2900 µL de solución etanólica de DPPH y 100 µL de muestra para posteriormente dejarlos reaccionar por 30 minutos. Por último, se leyó el espectrofotómetro a una longitud de onda de 517 nm. Para determinar el porcentaje de inhibición de radicales se usó la siguiente fórmula.

$$\% \text{ reducción de DPPH} = \frac{(A_c - A_m)}{A_c} * 100$$

*A<sub>c</sub>*: Absorbancia de la solución control.

*A<sub>m</sub>*: Absorbancia de la muestra.

Finalmente, se midió su capacidad antibacterial por lo que previo al bioensayo se realizaron tabletas de 1 g de cada uno de los extractos, empleando una prensa y un dado de acero de 10 mm de diámetro. Se cultivó *Staphylococcus aureus* en un tubo estéril de 10 ml con caldo nutritivo y se dejó en la incubadora con agitación constante a una temperatura de 37°C por 24 horas. Posteriormente se prepararon 16 cajas de agar sal y manitol, a continuación, se cembro la bacteria activada y se colocaron 3 tabletas de cada muestra por duplicado. Finalmente se incubó a 37°C por 48 h y se tomaron los resultados del bioensayo.

## Resultados y Discusión

Se obtuvieron extractos sólidos en polvo de distintas tonalidades (Figura 2) en donde se destaca una coloración más intensa en RUM.



Figura 2. Extractos obtenidos de *Rosmarinus Officinalis L.*

Los rendimientos obtenidos fueron mayores en la extracción llevada a cabo mediante metodología simultánea (RUM) obteniendo un rendimiento del 24.32% el cual en promedio es 6.26% mayor que las demás técnicas (Tabla 2). Además, el rendimiento al emplear de manera simultánea ultrasonido-microondas, obtuvo un porcentaje mayor a los rendimientos reportados en la literatura mediante otras metodologías. Barrazueta et al., reportaron un rendimiento de 7.99% en extractos de romero, empleando la asistencia de ultrasonido con cosolvente de etanol al 70% y CO<sub>2</sub> supercrítico (Barrazueta et al., 2015). Ortiz et al., realizaron extractos de romero mediante hidrodestilación con un rendimiento de 2.7% siendo este significativamente menor al obtenido en este trabajo (Ortiz et al., 2016). Finalmente, Luna et al. utilizaron tres distintas técnicas, siendo estas, asistencia de ultrasonido, calentamiento convencional y arrastre a temperatura ambiente para obtener extractos de *Rosmarinus Officinalis L.* en donde reportaron rendimientos de 19.17%, 16.66% y 8.22% respectivamente (Luna et al., 2020). Por lo tanto, todo apunta a que la asistencia simultánea de ultrasonido-microondas aumenta el rendimiento de extracción de los metabolitos secundarios presentes en *Rosmarinus Officinalis L.*

Tabla 2. Rendimientos obtenidos de las extracciones de *Rosmarinus Officinalis L.*

Clave	Rendimiento (%)
RUM	24.32
RTA	20.85
RU	17.71
RM	15.61

Los resultados obtenidos por FTIR-ATR de los extractos de *Rosmarinus Officinalis L.* (Figura 3) presentaron el mismo comportamiento en todos los tratamientos en los cuales podemos identificar estiramientos del enlace O-H el cual aparece alrededor de los 3400 cm<sup>-1</sup> hasta los 3200 cm<sup>-1</sup> aproximadamente, los cuales pueden hacer referencia a la presencia de alcoholes fenoles y éteres.

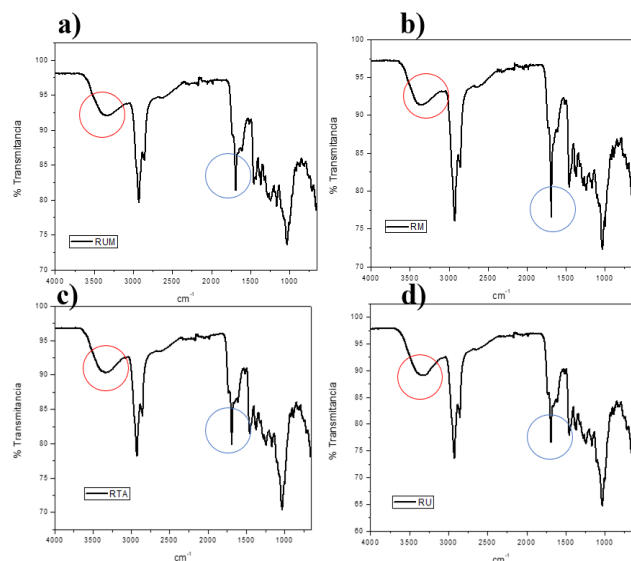


Figura 3. Espectroscopia infrarroja (FTIR-ATR) de los extractos obtenidos de hojas secas de *Rosmarinus Officinalis* L. a) RUM b) RM c) RTA d) RU

La vibración de estiramiento del grupo carbonilo C=O aparece entre  $1725\text{ cm}^{-1}$  y  $1705\text{ cm}^{-1}$ , el cual puede hacer referencia a la presencia de cetonas, ácidos carboxílicos y ésteres, mientras que para las cetonas aromáticas se observa un estiramiento entre  $1700\text{ cm}^{-1}$  y  $1680\text{ cm}^{-1}$ .

Boughendjioua et al., reportaron mediante FTIR estiramientos similares encontrados en extractos de *Rosmarinus Officinalis* L., ellos resaltaron la presencia de estiramientos característico de los compuestos terpenoides, tales como: C-H ( $\sim 2900\text{ cm}^{-1}$ ), estiramiento C=O ( $\sim 1700\text{ cm}^{-1}$ ), amplia extensión O-H ( $\sim 3400\text{ cm}^{-1}$ ) y extensión C-O ( $\sim 1100\text{ cm}^{-1}$ ) (Boughendjioua et al., 2017). Entre los terpenoides más reportados que *Rosmarinus Officinalis* L. posee, encontramos el acetato de bornilo, alcanfor,  $\alpha/\beta$  cariofileno  $\alpha$ -pineno, borneol y 1,8-cineol (Flores et al., 2020).

Sin embargo, estos estiramientos se pueden atribuir a algunos compuestos pertenecientes a otros grupos funcionales reportadas en la literatura tales como el ácido carnósico, carnosol, ácido rosmarínico, epirosmanol y rosmaridifenol (Centeno et al., 2010) en los cuales podemos apreciar estos tipos de enlaces (Figura 4). Recientemente Agatonovic et al., realizaron un análisis de los espectros superpuestos obtenidos mediante FTIR-ATR de extractos de *Rosmarinus Officinalis* L., ácido rosmarínico y ácido

carnósico (Figura 5), demostrando que los estiramientos de estos compuestos coinciden con los obtenidos en los extractos (Agatonovic et al., 2021).

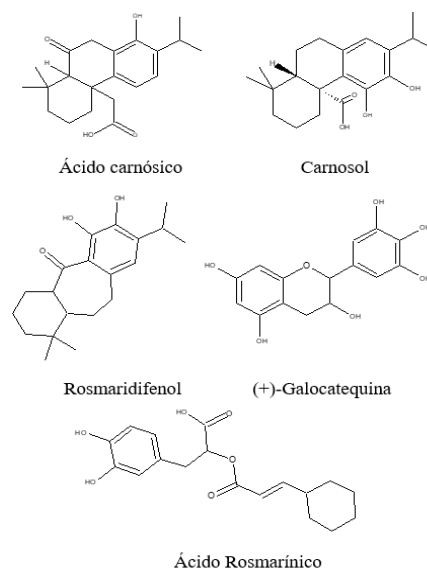


Figura 4. Estructuras de algunos compuestos reportados en la literatura encontrados en los extractos de *Rosmarinus Officinalis* L.

Por otro lado, Berechet et al., asociaron que los estiramientos que aparecen de  $2920\text{ cm}^{-1}$  a  $2852\text{ cm}^{-1}$ ,  $1727\text{ cm}^{-1}$  a  $1687\text{ cm}^{-1}$  y  $1452\text{ cm}^{-1}$  a  $1035\text{ cm}^{-1}$  son bandas correspondientes a los lípidos, amidas y carbohidratos, respectivamente contenidos en *Rosmarinus Officinalis* L. (Berechet, et al., 2019).

Mediante el análisis de HPLC-MS/ESI se lograron identificar 5 compuestos, una catequina, dos metoxiflavonoides, un ácido hidroxicinámico y una antocianina (Tabla 3). Es importante destacar que solo en el extracto de RUM se identificó Penodina y en RTA 3,7-dimetilquercetina, mientras que los demás compuestos se repitieron en los distintos extractos.

Todos los compuestos identificados han sido reportados en la literatura como potentes antioxidantes (Plumb et al., 2002). Además, Isorhamnetina 3-O-glucósido, Peonidina y Acido rosmarínico han presentado inhibición del crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *Salmonella typhimurium* y una citotoxicidad baja (Razavi et. al., 2009).

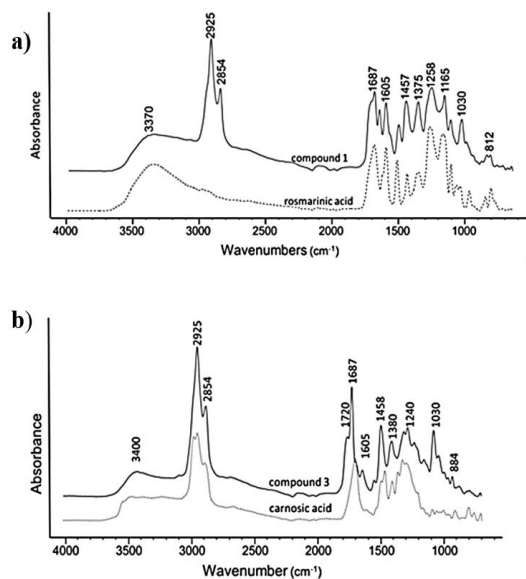


Figura 5. Espectros FTIR-ATR superpuestos de: (a) Extracto de *Rosmarinus Officinalis L.* y ácido Rosmarínico (b) Extracto de *Rosmarinus Officinalis L.* y ácido carnósico (Agatonovic et al.,2021).

Tabla 3. Análisis de HPLC-MS/ESI de extractos obtenidos de *Rosmarinus Officinalis L.*

Muestra	TR	Masa (m/z)	Compuesto	Familia
RU	24.771	305	(+)- Galocatequina	Catequinas
	33.031	476.9	Isorhamnetina 3-O-glucósido	Metoxiflavonoides
	36.377	358.9	Ácido rosmarínico	Ácidos hidroxicinámicos
RM	28.988	305	(+)- Galocatequina	Catequinas
	36.706	477	Isorhamnetina 3-O-glucósido	Metoxiflavonoides
	39.856	359	Ácido rosmarínico	Ácidos hidroxicinámicos
RUM	25.681	304.9	(+)- Galocatequina	Catequinas
	36.817	359	Ácido rosmarínico	Ácidos hidroxicinámicos
RTA	46.755	299.3	Penodina	Antocianinas
	26.802	304.9	(+)- Galocatequina	Catequinas
	34.675	476.9	Isorhamnetina 3-O-glucósido	Metoxiflavonoides
	37.615	359	Ácido rosmarínico	Ácidos hidroxicinámicos
	48.349	329	3,7-dimetilquercetina	Metoxiflavonoides

(TR) Tiempo de retención.

En la Tabla 4 se observan los porcentajes de inhibición antioxidante por el método DPPH de los extractos de *Rosmarinus Officinalis L.*

Los extractos con menor porcentaje de inhibición fueron RTA y RUM con 82.53% y 69.13% respectivamente mientras que los extractos con mayor porcentaje de inhibición fueron RM y RU presentando un porcentaje de inhibición de 84.76% y 83.73.

Tabla 4. Porcentajes de inhibición antioxidante por el método DPPH.

Muestra	Absorbancia Promedio	Inhibición (%)
RTA	0.07±0.004	82.53
RM	0.07±0.002	83.73
RU	0.06±0.001	84.77
RUM	0.12±0.002	69.14

A pesar de que el porcentaje del extracto obtenido de manera simultánea (RUM) presenta menos inhibición antioxidante que los demás tratamientos, este porcentaje resulta mayor a los reportados en la literatura. Choi et al., reportaron 67.4% de inhibición en extractos asistidos con ultrasonido (Choi et al., 2010) y posteriormente Araujo et al., reportaron 25.70% de inhibición en extractos de romero obtenidos mediante infusiones etanolicas (Araujo et al., 2014).

Por último, la prueba antibacterial realizada mediante los estándares interpretativos de susceptibilidad a la difusión en disco de Kirby-Baue, los cuales para especies de *Staphylococcus* son reportados solo como susceptibles cuando el diámetro es mayor a 18 mm, intermedios si el diámetro es de 15-17 mm o resistentes cuando el diámetro es menor a 14 mm, todos los extractos obtenidos de *Rosmarinus Officinalis L.* mostraron inhibición (Tabla 5) contra *Staphylococcus aureus*.

Para un analisis mas eficiente, se realizo una comparacion de los resultados en los distintos extractos (Figura 6), de tal manera que se logró identificar mayor rendimiento y mayor capacidad inhibitoria conta *Staphylococcus aureus* en RUM, esto ultima se puede atribuir a la presencia de Penodina, compuesto que ha sido estudiado con anterioridad por Razavi et. al., en el cual se reporta

amplia inhibición específicamente contra esta bacteria.

Tabla 5. Estándares interpretativos de susceptibilidad a la difusión en disco de Kirby-Baue de los extractos de *Rosmarinus Officinalis L.*

Muestra	Estándares interpretativos	Diámetro promedio de inhibición (mm)
RUM	Susceptible	29.8
RU	Susceptible	23.7
RM	Susceptible	23.3
RTA	Susceptible	24.8

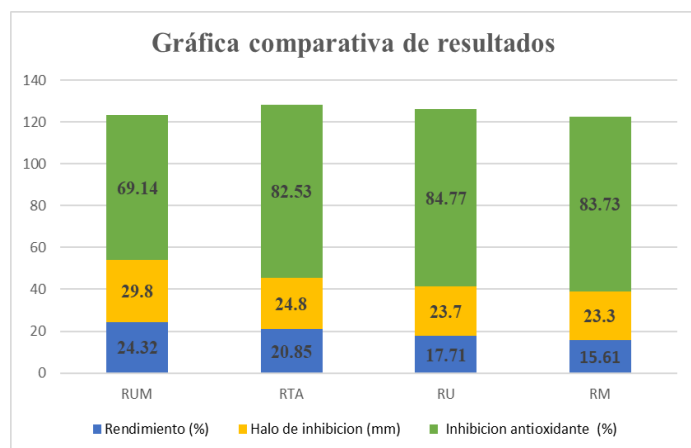


Figura 6. Comparación de los resultados de las distintas pruebas realizadas a los diferentes extractos obtenidos de *Rosmarinus Officinalis L.*

### Conclusión

La metodología simultanea de ultrasonido-microondas es una alternativa para obtener un porcentaje mayor de extracto, en menor tiempo, utilizando menos recursos y sin desechos tóxicos o contaminantes. Además, *Rosmarinus Officinalis L.* es una planta que contiene metabolitos secundarios que presentan capacidad antioxidante y antibacterial. Por lo tanto, esta metodología puede ser una alternativa viable para la obtención de compuestos orgánicos empleados en distintas industrias mediante métodos más verdes.

### Agradecimientos

Se agradece al CONACYT por la beca con No. CVU 1147562 otorgada y al apoyo proporcionado a través del proyecto SEP-CONACYT Ciencias Básica 2017-2018 CB2017-2018 A1-S-44977. Finalmente se agradece a la Universidad Autónoma de Coahuila y a la Facultad de Ciencias Químicas.

### Referencias

Agatonovic-Kustrin, Snezana, et al. "HPTLC and ATR/FTIR Characterization of Antioxidants in Different Rosemary Extracts." *Molecules* 26.19 (2021): 6064. <https://doi.org/10.3390/molecules26196064>

Ali, A., Oon, C. C., Chua, B. L., Figiel, A., Chong, C. H., Wojdylo, A., ... & Łyczko, J. (2020). Volatile and polyphenol composition, anti-oxidant, anti-diabetic and anti-aging properties, and drying kinetics as affected by convective and hybrid vacuum microwave drying of *Rosmarinus officinalis L.* *Industrial Crops and Products*, 151, 112463. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112463>

Alirezalu, K., Pateiro, M., Yaghoubi, M., Alirezalu, A., Peighambaroust, S. H., & Lorenzo, J. M.. (2020). Phytochemical constituents, advanced extraction technologies and techno-functional properties of selected Mediterranean plants for use in meat products. *Trends in Food Science & Technology*, 100, 292-306. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.04.010>

Araujo Corrales, Genessis Nataly. (2014). Bebida a base de romero (*rosmarinus officinalis*) y medición de antioxidantes por el método DPPH. Diss. Universidad de Guayaquil. Facultad de Ingeniería Química. [En línea] Revisado el 28/09/2022 en: <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/7187>

Barrazueta, Sandra, Guillermo Mendoza, and Tiziana Fornari. (2015). "Uso de ultrasonidos en la extracción de plantas labiadas combinando etanol y CO2 supercrítico." *Alimentos, Ciencia e Ingeniería*;23(1) 37-46. [En línea] Revisado el 28/09/2022 en: [https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/1234\\_56789/12941](https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/1234_56789/12941)

Berechet, M. D., Constantinescu, R. R., Maria, R. A. P. A., Chirila, C., Stanca, M., Simion, D., & Gurau, D. F. (2019). Antifungal And Antibacterial Treatments based on natural compounds for lining leather and footwear articles. *Revista de Pielarie*

- Incaltaminte*, 19(4), 201.  
<https://doi.org/10.24264/lfj.19.4.5>
- Boughendjioua, H., & Boughendjioua, Z. (2017). Fourier transformed infrared spectroscopy analysis of constituents of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil from Algeria. *Inorganic materials*, 14, 15. [En línea]. Revisado el 24/10/2022 en: [https://www.florajournal.com/archives/2017/vol5\\_issue4/PartB/6-3-5-602.pdf](https://www.florajournal.com/archives/2017/vol5_issue4/PartB/6-3-5-602.pdf)
- Camargo, A. D. P. S. (2021). Nuevas tecnologías. Alternativas de aprovechamiento de los residuos en la agroindustria, 31.
- Centeno S. & Calva M. (2010). Antifungal activity of extract of *Rosmarinus officinalis* and *Thymus vulgaris* on *Aspergillus flavus* and *A. ochraeus*. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, Rev. 12: 564-582.  
<https://doi.org/10.3923/pjbs.2010.452.455>.
- Choi, In-Young, Young-Ju Song, and Wang-Hyu Lee. (2010) "DPPH radical scavenging effect and antimicrobial activities of some herbal extracts." *Horticultural Science & Technology* 28.5: 871-876.  
<https://doi.org/10.9721/KJFST.2013.45.4.501>
- Dogan, Kubra, Perihan Kubra Akman, and Fatih TÖRNÜK. (2019). "Improvement of bioavailability of sage and mint by ultrasonic extraction." *International Journal of Life Sciences and Biotechnology* 2.2, 122-135.  
<https://doi.org/10.38001/ijlsb.582148>
- Flores-Villa, Emmanuel, et al. "Romero (*Rosmarinus officinalis* L.): su origen, importancia y generalidades de sus metabolitos secundarios." *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas* 23.1 (2020): 1-17.  
<https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.266>
- Flores-Villa, Sáenz-Galindo, Castañeda-Facio & Narro-Céspedes. (2020). Romero (*Rosmarinus officinalis* L.): su origen, importancia y generalidades de sus metabolitos secundarios. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 23: 1-17.  
<https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.266>
- Genena, A. K., Hense, H., Smânia Junior, A., & Souza, S. M. D. (2008). Rosemary (*Rosmarinus officinalis*): a study of the composition, antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained with supercritical carbon dioxide. *Food Science and Technology*, 28, 463-469.  
<https://doi.org/10.1590/S0101-20612008000200030>
- Hammer, M., & Junghanns, W. (2020). *Rosmarinus officinalis* L.: Rosemary. In *Medicinal, Aromatic and Stimulant Plants* (pp. 501-521). Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-38792-1\\_15](https://doi.org/10.1007/978-3-030-38792-1_15)
- Jain, C., Khatana, S., and Vijayvergia, R. (2019). Bioactivity of secondary metabolites of various plants: a review. *Int. J. Pharm. Sci.* 10, 494–404.  
[https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.10\(2\).494-04](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.10(2).494-04)
- Luna-Sanchez, K. A. (2020). Estudio de extracción asistida por sonoquímica de compuestos orgánicos a partir del romero (*Rosmarinus officinalis* L.) con posibles aplicaciones antibacterianas. [Tesis de licenciatura no publicada]. Universidad Autónoma de Coahuila. Facultad de Ciencias Químicas.
- Nieto, G., Ros, G., & Castillo, J. (2018). Antioxidant and antimicrobial properties of rosemary (*Rosmarinus officinalis*, L.): A review. *Medicines*, 5(3), 98.  
<https://doi.org/10.3390/medicines5030098>
- Ortiz-Rojas, Y. (2016). Aprovechamiento de la actividad antioxidante de extractos y aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis* L.), tomillo (*Thymus vulgaris* L.) y menta (*Mentha spicata* L.) como aditivo funcional en aceites comestibles. Escuela de Posgrados. [En línea] Revisado el 28/09/2022 en: <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/57914>
- Oskar Bera, Elmas Oktem Olgun, Oltan Canli, Nemanja Milosavljević, Boris Antić, Zoran Zeković, (2019). Microwave-assisted extraction of peppermint polyphenols – Artificial neural networks approach, *Food and Bioproducts Processing*, Volume 118, 258-269, 0960-3085.  
<https://doi.org/10.1016/j.fbp.2019.09.016>
- Pardo, L., Arias, J., y Molleda, P. (2022). Elaboración de nanopartículas de plata sintetizadas a partir de extracto de hojas de romero (*Rosmarinus officinalis* L.) y su uso como conservante. *La Granja: Revista de Ciencias de la Vida*. Vol. 35(1):45-58.  
<http://doi.org/10.17163/lgr.n35.2022.04>
- Pizani, R. S., Viganó, J., de Souza Mesquita, L. M., Contieri, L. S., Sanches, V. L., Chaves, J. O., ... & Rostagno, M. A. (2022). Beyond aroma: A review on advanced extraction processes from rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and sage (*Salvia officinalis*) to produce phenolic acids and diterpenes. *Trends in Food Science & Technology*.  
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.07.001>



Plumb, G. W., et al. "Antioxidant properties of gallocatechin and prodelphinidins from pomegranate peel." *Redox Report* 7.1 (2002): 41-46.

<https://doi.org/10.1179/135100002125000172>

Razavi, Seyed Mehdi, et al. "Biological activity of quercetin-3-O-glucoside, a known plant flavonoid." *Russian Journal of Bioorganic Chemistry* 35.3 (2009): 376-378.

<https://doi.org/10.1134/S1068162009030133>