

## Evaluación del comportamiento del tiempo de operación sobre el rendimiento del aceite esencial de *Psidium caudatum* obtenido por extracción de arrastre con vapor de agua en planta piloto

Martha Lucía Pinzón-Bedoya<sup>1</sup>, Yasmín Pérez Suarez<sup>1</sup>, Víctor Manuel Gélvez Ordóñez<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Grupo de Investigación Recursos Naturales, Universidad de Pamplona,

<sup>2</sup>Grupo de Investigación GINTAL, Universidad de Pamplona, Colombia.

### RESUMEN

El aceite esencial objeto de esta investigación se obtuvo en planta piloto a partir de material foliar de la familia Mirtacea, de la especie *Psidium caudatum*, procedente de Toledo, Norte de Santander (Colombia). Este aceite fue obtenido a diferentes tiempos de operación y los resultados fueron analizados, haciendo uso de SPSS 17.0, realizando inicialmente un diseño experimental, mediante un análisis factorial con cinco tratamientos para un único factor y cinco replicas, el cual reporta que no existen diferencias matemáticas significativas entre los tiempos de operación utilizados. El diagrama Box Plot obtenido indica que el tiempo de operación, con el mayor rendimiento para la extracción del aceite esencial de esta especie en planta piloto corresponde a 6 horas. El análisis por GC-MS reportó que los componentes mayoritarios encontrados en la muestra de aceite esencial foliar fueron de tipo monoterpenicos, con porcentajes relativos de 28,1% y 26,6%, para el Limoneno y el 1,8-Cineol, respectivamente. Las propiedades físicas para el aceite esencial analizado fueron: Densidad  $0.8900 \pm 0.0052$ , Índice de Refracción  $1.4800 \pm 0.0052$  y Rotación Óptica  $3.4300 \pm 0.0800$ .

**PALABRAS CLAVE:** Tiempo de operación, Rendimiento, Aceite esencial, *Psidium caudatum*, Planta Piloto.

### ABSTRACT

The essential oil object of this investigation was obtained in pilot plant from foliate material of the Myrtaceae family, of the *Psidium caudatum* species, coming from Toledo, North of Santander (Colombia). This oil was obtained at different times of operation and the results were analyzed, making use of SPSS 17.0, carrying out an experimental design initially, by means of a factorial analysis with five treatments for an only factor and five replies, which reports that don't exist differences mathematical significant between the times used of operation. The diagram Box Plot obtained indicates that the time of operation, with the biggest yield for the extraction of the essential oil of this species in plant pilot corresponds at 6 hours. The analysis for GC-MS reports that the majority components found in the sample of oil essential to foliate were of type monoterpenic, with relative percentages of 28,1% and 26,6%, for the Limonene and the 1,8-Cineole, respectively. The physical properties for the analyzed essential oil were: Density  $0.8900 \pm 0.0052$ , Index of Refraction  $1.4800 \pm 0.0052$  and Optic Rotation  $3.4300 \pm 0.0800$ .

**KEY WORDS:** Time of operation, Performance, Essential oil, *Psidium caudatum*, Pilot plant.

\*Para citar este artículo: Pinzón-Bedoya ML, Pérez Suarez Y, Gélvez Ordóñez VM. Evaluación del comportamiento del tiempo de operación sobre el rendimiento del aceite esencial de *Psidium caudatum* obtenido por extracción de arrastre con vapor de agua en planta piloto. Bistua. 2011;9(1):63-69

+ Autor para el envío de correspondencia y la solicitud de las separatas: Grupo de Investigación Recursos Naturales, Universidad de Pamplona e-mail: [mlpinzon@unipamplona.edu.co](mailto:mlpinzon@unipamplona.edu.co)

Recibido: Diciembre 15 2010

Aceptado: Abril 12 de 2011



64

## INTRODUCCION

La familia de las mirtáceas posee 121 géneros y entre 3800-5800 especies. Está considerada como una de las familias más importantes en los bosques tropicales, correspondiendo a árboles de aspecto esbelto y arbustos aromáticos, leñosos, de hoja perenne que frecuentemente producen frutas comestibles [1] [2], encontrándose en abundancia en regiones de América, Asia y Australia [3]. Varios miembros de esta familia se usan en medicina popular, principalmente como anti diarreicos, anti microbianos, anti oxidantes, anti reumáticos, anti inflamatorios y para disminuir el colesterol de la sangre. Estas propiedades conocidas y aplicadas ancestralmente, han sido corroboradas mediante la identificación por los avances investigativos actuales, pero podría afirmarse que los estudios químicos sobre la familia Mirtácea en América simplemente han comenzado [1]. Los resultados obtenidos a la fecha muestran que los aceites esenciales obtenidos de mirtáceas exhiben actividades antimicrobianas [4 - 9], larvicida [10], antioxidante [11] [12], entre otras, así como alguna actividad farmacológica relevante como la actividad anticonvulsiva [13]. Por consiguiente, las mirtáceas [14] son una fuente prometedora de compuestos biológicamente activos y se debe seguir avanzando hacia la identificación química de los constituyentes de los aceites esenciales de las diferentes especies de esta familia [15] [16].

Relativamente pocas especies se han sido analizadas, y la mayoría de los trabajos reportan la composición del aceite esencial de material foliar. La composición reportada para el género *Eugenia spp.*, exhibe un predominio de sesquiterpenos y monoterpenos; para el género *Blepharocalyx*, se reportan cantidades grandes de monoterpenos, principalmente 1,8-cineol y para el género *Psidium*, uno de los más ampliamente estudiados (70 especies), los datos encontrados son inconsistentes, aunque a pesar de ello es común a la gran mayoría

el  $\beta$ -Cariofileno. Un comportamiento similar se observa para los aceites esenciales del género *Pimenta* (15 especies), exhibiendo un alto contenido en fenilpropanoides tales como el eugenol y metileugenol [1].

La investigación de las plantas medicinales, como medicina alternativa se ve truncada en muchas oportunidades porque la cantidad de aceite esencial extraído, obtenido a partir del material vegetal a nivel de laboratorio, es muy pequeña.

Dentro de este contexto se hace necesario realizar extracciones a nivel de planta piloto, utilizando mayores cantidades de sustrato, para lograr de esta manera una mayor cantidad de extracto, disminuyendo el tiempo de operación y la cantidad agua de recirculación para el sistema de enfriamiento, lo que se traduce en un ahorro energético y ambiental, reflejándose esta reducción en una disminución de los costos operacionales.

El objetivo principal de esta investigación es la determinación del mejor tiempo de operación para la extracción en sistema discontinuo o "batch" a nivel de planta piloto de aceite esencial de material foliar de *Psidium caudatum* proveniente de Toledo (Norte de Santander). Esta región se encuentra localizada al nororiente del departamento y a una altura de 1642 msnm, cuya ubicación geográfica en coordenadas corresponden a N 7°18'12,20" y W 72°29'31,51", lugar que ofrece las condiciones medioambientales requeridas para el desarrollo silvestre de esta especie. Para tal determinación se planteó un diseño experimental, aplicando un análisis factorial con cinco tratamientos para un único factor y cinco replicas para cada tratamiento, haciendo uso de SPPS v17. El aceite esencial obtenido se caracterizó física y químicamente. La caracterización física consistió en la determinación de su densidad, índice de refracción y rotación óptica, y la caracterización química consistió en la determinación de su composición química por medio de análisis GC-MS, el cual se realizó en el Laboratorio de Cromatografía de la Universidad Industrial de Santander.

65

## METODOLOGIA

### Material vegetal

El material vegetal corresponde a material tipo foliar de individuos de la especie *Psidium caudatum*, colectado en las inmediaciones de Toledo al nororiente del departamento Norte de Santander, donde esta especie crece de manera silvestre. La recolección del material en campo se llevó a cabo "in situ" mediante la selección del lote con mayor abundancia de esta especie y se delimitó la zona de recolección del material foliar al sitio con el mayor número de individuos, eligiendo los arbustos de la especie que en posición de zigzag abarquen diferentes puntos de la parcela, correspondiendo ello a un muestreo aleatorio al azar. El criterio de selección de dicho material se basó en la recolección aleatoria de hojas en diferentes estados de longevidad. Para este propósito se seleccionaron las hojas jóvenes (<15 días), las cuales se encuentran en la parte más alta del área foliar de los árboles, cuyas características son su color vivo y tallos tiernos y las hojas maduras (4 meses), las cuales se localizan en la parte inferior del área foliar de la planta, con apariencia opaca y tallos leñosos. El material recolectado se limpió, homogeneizó y secó para su posterior reducción de tamaño de partículas hasta un diámetro  $\leq 1$  cm.

### Destilación por arrastre con vapor en planta piloto

La planta piloto en la cual se realizó la extracción del aceite esencial, se encuentra ubicada en el Laboratorio de Biología y Química de la Universidad de Pamplona, Extensión Villa del Rosario. Esta planta cuenta con un diseño conectado en serie, el cual se compone de una torre de tres secciones en acero inoxidable conectadas a una estructura de vidrio compuesta por un reservorio de material destilado (Dean-Stark) y dos refrigerantes en forma de espiral. La cantidad de agua utilizada en cada experimento se determinó de acuerdo con la relación sólido-líquido (S/L) establecida de acuerdo con la capacidad de la planta.

De acuerdo con la relación sólido-líquido (S/L) establecida, se realizaron los montajes para los respectivos experimentos, para los tiempos de operación seleccionados a fin encontrar la incidencia del mismo sobre el porcentaje de rendimiento del aceite esencial obtenido. Una vez concluido el tiempo de operación, se procedió a evacuar y almacenar en recipientes de vidrio color ámbar el aceite obtenido para su posterior refrigeración a  $-4$  °C. El producto así obtenido se

almaceno, se rotuló y se secó con sulfato de sodio anhidro para su posterior caracterización.

### Preparación de la muestra

Para la caracterización química, se tomó una alícuota (50  $\mu$ L) del aceite esencial exento de agua, la cual se disolvió en diclorometano hasta un volumen final de 1 mL. Posteriormente, 1  $\mu$ L de la disolución diclorometano-aceite se inyectó al equipo GC-MS, para su análisis cromatográfico.

### Análisis cromatográfico

La preparación de la muestra se llevó a cabo por dilución e inyección directa del aceite esencial al equipo cromatográfico. El análisis cromatográfico se realizó en un cromatógrafo de gases *Agilent Technologies* 6890 Plus acoplado a un detector selectivo de masas (MSD, *Agilent Technologies* 5973) operado en el modo de barrido completo de radiofrecuencias (*full scan*). La columna empleada en el análisis fue DB-5MS (*J & W Scientific, Folsom, CA, EE.UU.*) [5%-fenil-poli(dimetilsiloxano), 60 m x 0.25 mm x 0.25  $\mu$ m]. La inyección se realizó en modo *Split* (5:1), Viny = 1  $\mu$ L. Los compuestos determinados en la muestra, se identificaron con base en sus índices de retención y espectros de masas, usando las bases de datos de NIST, Wiley y Adams.

### Caracterización físico-química del aceite esencial

Las características fisicoquímicas evaluadas del aceite esencial obtenido fueron la densidad, el índice de refracción y la rotación óptica, utilizando como aparatos de medición picnómetro, refractómetro digital Reichert AR 200 y polarímetro de círculo HERGESTELIT DDR, con tubo polarimétrico de porcelana de 190.1 mm, y lámpara de sodio, respectivamente. Las muestras evaluadas fueron obtenidas para cada uno de los ensayos realizados para la determinación del tiempo óptimo de operación. Los resultados de esta caracterización se indican en el numeral 3.3.

### Análisis estadístico

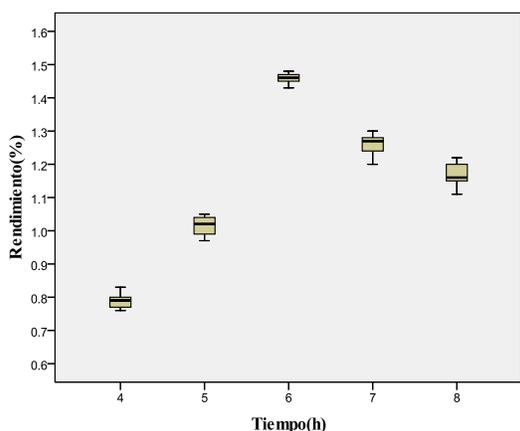
Para determinar el mejor tiempo de operación, se aplicó un análisis factorial con cinco tratamientos para un único factor y cinco replicas para cada tratamiento, para un total de 25 datos, los cuales fueron analizados utilizando estadística descriptiva haciendo uso de SPSS 17.0, con el objeto de observar las diferencias matemáticamente significativas entre los rendimientos correspondientes a los cinco valores de tiempo de operación utilizados.

## RESULTADOS Y DISCUSION

### Tiempo de operación

Para encontrar el tiempo de operación óptimo se utilizó la prueba de Tukey DHS. Los resultados obtenidos con esta técnica estadística muestran que los cinco tiempos de operación seleccionados, no difieren estadísticamente a un nivel de significancia del 0.05%, tal y como lo indican los datos que se reportan en la Tabla 1.

En la Gráfica 1 se muestra un diagrama tipo Box Plot del Rendimiento *vs* Tiempo de Operación. Esta técnica de la estadística descriptiva, hace una comparación entre las medias de los grupos de las medidas, partir de la cual se observa, que el tiempo de operación correspondiente a 6 h de tratamiento, corresponde al mayor rendimiento obtenido para el grupo de datos analizados.



Gráfica 1. Diagrama tipo Box Plot con resultados de % Rendimiento *vs* Tiempo de Operación

### Metabolitos secundarios

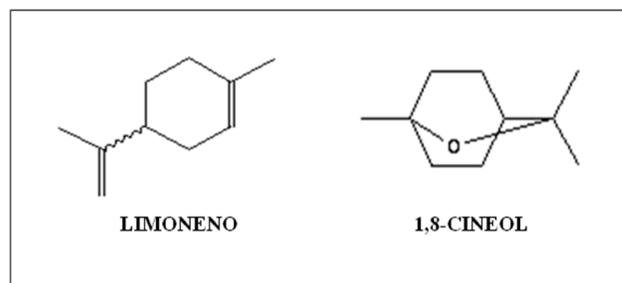
El resultado de la caracterización química del aceite esencial por GC-MS, extraído de hojas secas de *Psidium caudatum* en planta piloto, correspondiente a un tiempo de operación de 6 horas, indica que en el aceite esencial se encuentran alrededor de 32 compuestos.

Los componentes mayoritarios encontrados en el aceite obtenido a partir de hojas de la especie estudiada, de acuerdo a su orden de importancia son: Limoneno (28,1 %), 1,8-Cineol (26,6 %), trans- $\beta$ -Cariofileno (8,9 %) y  $\alpha$ -Pinoeno (5,3 %). De igual

manera fueron identificados otros hidrocarburos monoterpénicos, pero en menor porcentaje relativo. Estos son:  $\alpha$ -Terpineol (3,4 %), (E)-Nerolidol (3,0 %) y Linalol (2,0 %). Como hidrocarburos sesquiterpénicos se identificaron:  $\gamma$ -Eudesmol (3,0 %),  $\alpha$ -Copaeno (2,2 %), 1,10-di-*epi*-Cubenol (2,2 %) y  $\gamma$ -Cadineno (1,5 %).

En la Gráfica 2 se muestra la corriente iónica total reconstruida (cromatograma) del aceite esencial de *Psidium caudatum*, analizada por GC-MS.

En la Tabla 2 se reportan los componentes mayoritarios encontrados en el aceite esencial de *Psidium caudatum*, obtenidos a partir del análisis por GC-MS. En la Gráfica 3 se muestra la estructura química del Limoneno y 1,8-Cineol, los cuales fueron los dos componentes con mayor porcentaje relativo en el aceite de *Psidium caudatum* analizado.



Gráfica 3. Estructura química de los dos componentes con mayor porcentaje relativo encontrados en el aceite esencial de *Psidium caudatum* colectado en el municipio de Toledo

### Caracterización de las propiedades físicas del aceite esencial

Los resultados de las muestras analizadas en el laboratorio para determinar las características físicas del aceite esencial, se reportan en la Tabla 3. El criterio matemático utilizado fue la media  $\pm$  dos veces la desviación estándar de las medidas realizadas.

### CONCLUSIONES

Los resultados del Box Plot obtenido, indica que el mejor tiempo de operación para la extracción del aceite esencial de las hojas secas de *Psidium caudatum* por arrastre con vapor de agua en planta piloto es de 6 horas, ya que en este, se obtiene el mayor rendimiento. Aunque el diseño de experimentos no muestra diferencias significativas, tiempos de operación mayores a 6 horas

67

disminuyen el rendimiento y aumentan el costo de operación.

La composición química del aceite esencial de hojas de *Psidium caudatum*, obtenido por arrastre con vapor de agua en planta piloto presenta al Limoneno y 1,8-Cineol, como los componentes con mayor porcentaje relativo.

El resultado obtenido en esta investigación, está de acuerdo con los resultados reportados por Díaz et al., 2008, quienes indican que el aceite esencial de esta misma especie colectado y analizado en Venezuela, posee entre los componentes mayoritarios  $\beta$ -Cariofileno (21.9 %) y  $\alpha$ -Pino (10.9 %); este último componente, también se encontró en el aceite extraído de esta especie colectado en Pamplona, en una investigación hecha por Yáñez, et al., 2002, donde su concentración fue de 4.49%.

Los resultados de las propiedades físicas del aceite esencial, densidad e índice de refracción, obtenidos en esta investigación, presentan valores similares a los reportados por Palomino y Calderón, 1972, en cuya investigación se obtuvieron valores de 0.8994 y 1.4775, para estas propiedades respectivamente.

#### AGRADECIMIENTOS

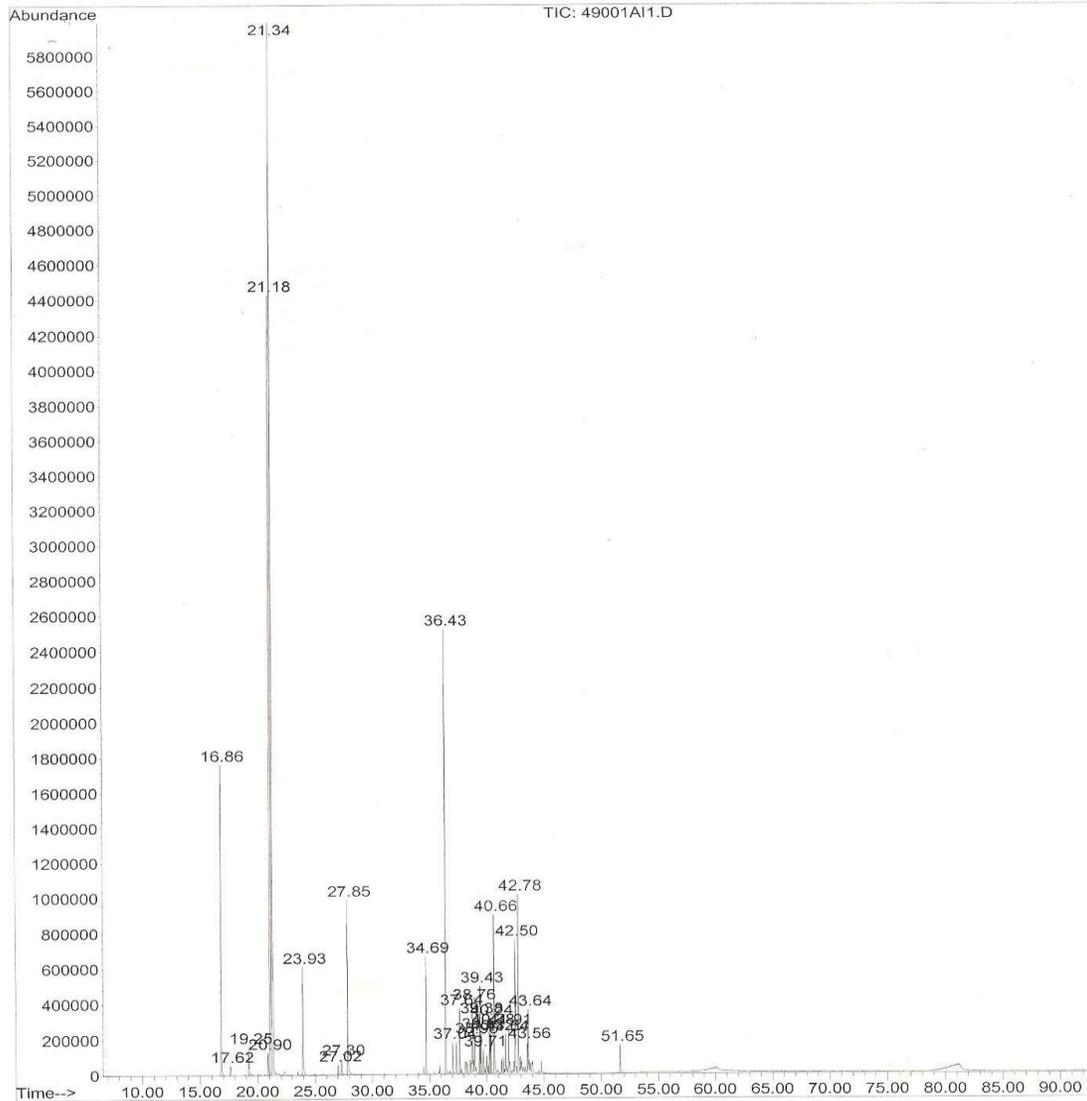
A Colciencias, Proyecto de Investigación, Desarrollo e Innovación Tecnológica en las regiones. Convocatoria 341.

#### Referencias Bibliográficas

1. Stefanello MEA, Pascoal ACRF, Salvador MJ. (2011). Essential Oils from Neotropical Myrtaceae: Chemical Diversity and Biological Properties. *Chemistry & Biodiversity* 8 1:73-94.
2. Palomino PE, Calderón GE. (1972). Estudio fitoquímico del aceite esencial de *Psidium caudatum* McVaugh. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas* 57-74.
3. Yáñez X, Pinzon ML, Solano F, Sanchez LR. (2002). Chemical composition of the essential oil of *Psidium caudatum* Mc Vaugh. *Molecules* 7:712-716.
4. Mann CM, Markham JL. (1998). A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oil. *Journal of Applied Microbiology* 84 4: 538-544.
5. Oliva B, Piccirilli E, Ceddia T, Pontieri E, Aureli P, Ferrini AM. (2003). Antimycotic activity of *Melaleuca alternifolia* essential oil and its major components. *Letters in Applied Microbiology* 37 2: 185-187.
6. Wilkinson JM, Cavanagh HMA. (2005). Antibacterial activity of essential oils from Australian native plants. *Phytotherapy Research* 19 7: 643-646.
7. Carson CF, Hammer KA, Riley TV. (2006). *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil: a Review of Antimicrobial and Other Medicinal Properties. *Clinical Microbiology Reviews* 19 1: 50-62.
8. Sati SC, Joshi S. (2011). Aspects of Antifungal Potential of Ethnobotanically Known Medicinal Plants. *Research Journal of Medicinal Plant* 5 4: 377-391.
9. Díaz T, Mora FD, Velasco J, Díaz T, Rojas LB, Usubillaga A, Carmona AJ. (2008). Chemical composition and *in vitro* antibacterial activity of the essential oil of *Calycolpus moritzianus* (O. Berg) Burret from Merida, Venezuela. *Natural Product Communications* 3 6: 937-940.
10. Aguilera L, Navarro A, Tacoronte JE, Leyva M, Marquetti MC. (2003). Efecto letal de myrtaceas cubanas sobre *Aedes aegypti* (Díptera: Culicidae). *Revista Cubana de Medicina Tropical* 55 2:100-104.
11. Neerghen VS, Soobrattee MA, Bahoruna T, Aruomab OI. (2006). Characterization of the phenolic constituents in Mauritian endemic plants as determinants of their antioxidant activities *in vitro*. *Journal of Plant Physiology* 163 3: 787-799.
12. Kiendrebeogo M, Coulibaly AY, Nebie RCH, Zeba B, Lamien CE, Lamien-Meda A, Nacoulma OG. (2011). Activity of essential oils from six medicinal plants from Burkina Faso. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 21 1: 63-69.
13. Nóbrega de Almeida R, Agra MF, Negromonte Souto Maior F, de Sousa DP. (2011). Review: Essential Oils and Their Constituents: Anticonvulsant Activity. *Molecules* 16: 2726-2741.
14. Wilson PG. (2011). Myrtaceae. The Families and Genera of Vascular Plants. Springer Link Book. Chapter 4 10: 212-271.
15. Chalannavar RK, Baijnath H, Odhav B. (2011). Chemical constituents of the essential oil from *Syzygium cordatum* (Myrtaceae). *African Journal of Biotechnology* 10 14: 2741-2745.
16. Souza AP, Marques MR, Mahmoud TS, Caputo BA, Canhete GM, Leite CB, De Lima DP. (2008). Bioprospecting insecticidal compounds from plants native to Mato Grosso do Sul, Brazil. *Acta Botanica Brasilica* 22 4: 1136-1140.

Tiempos de operación (h)	Promedio % Rendimiento	± Desviación Estándar	
4	0.790	±0.02739	e
5	1.0140	±0.03362	d
6	1.4580	±0.01924	a
7	1.2580	±0.03899	b
8	1.1720	±0.04324	c

Tabla 1. Porcentaje de rendimiento del aceite esencial de *Psidium caudatum*, obtenido en diferentes tiempos de operación. \*Letras iguales no presentan diferencia estadísticamente significativa ( $\alpha=0.05\%$ )



Gráfica 2. Cromatograma del aceite esencial de *Psidium caudatum*, analizado por GC-MS

<i>Componente</i>	<i>t<sub>R</sub> min</i>	<i>Identificación</i>	<i>Cantidad relativa, %</i>
1	21,18	Limoneno	28,1
2	21,34	1,8-Cineol	26,6
3	36,43	<i>trans</i> - $\beta$ -Cariofileno	8,9
4	16,86	$\alpha$ -Pinoeno	5,3
5	27,85	$\alpha$ -Terpineol	3,4
6	40,66	(E)-Nerolidol	3,0
7	42,79	$\gamma$ -Eudesmol	3,0
8	34,69	$\alpha$ -Copaeno	2,2
9	42,50	1,10-di- <i>epi</i> -Cubenol	2,2
10	23,93	Linalol	2,0
11	39,43	$\gamma$ -Cadineno	1,5

Tabla 2. Componentes mayoritarios encontrados en el aceite esencial de *Psidium caudatum*

<i>Propiedad</i>	<i>Densidad (g/L)</i>	<i>Índice de refracción</i>	<i>Rotación Óptica</i>
	$\rho_{relativa}^{20C}$	$\eta_D$	$\alpha_{298nm}^{20c}$ <i>Levógī.</i>
Media de los valores $\pm$ 2 Desv. Est.	0.8900 $\pm$ 0.0052	1.4800 $\pm$ 0.0052	3.4300 $\pm$ 0.0800

Tabla 3. Caracterización de algunas propiedades físicas del aceite esencial de *Psidium caudatum*