

Extracción de aceite esencial de *Aristiguetia gayana*, "ASMACHILCA"

Arévalo Ortiz, Fermin H.; Espinoza Tomayquispe, Pedro A.; Leonardo Ore, Jazmín R.

Departamento de Química, Universidad Agraria la Molina, Lima, Perú - 2014

INTRODUCCION

Desde tiempos inmemoriales las plantas han tenido gran importancia para el hombre en diferentes aspectos como alimenticio, medicinal, entre otros. Es por ello que son los primeros organismos en ser domesticados para la obtención de compuestos de interés, tal es el caso como la obtención de aceites esenciales el cual posee ciertos compuestos que actúan como aromatizante, o tienen propiedades antibacterianas, medicinales, relajantes ,etc.

Los aceites esenciales son una mezcla de varios compuestos orgánicos volátiles, generalmente una mezcla de 20-60 componentes, que presentan aroma de manera concentrada de la planta procedente, se compone de hidrocarburos terpenicos, sus derivados oxigenados, alcoholes, aldehídos y cetonas, también de éteres, esterres y compuestos fenólicos, fenilpropanoides y otros derivados. (1)

Para obtener los aceites esenciales se utilizan diversas partes de la plantas como flores, hojas, raíces, tallo, frutos y semillas, en donde los aceites se encuentran en células oleíferas, canales secretorios, glándulas y tricomas. Dependiendo de la planta, algunos presentan aceites esenciales en casi toda la planta o en ciertas partes. Así por ejemplo la *Aristiguetia gayana* o asmachilca, hierva que tiene propiedades comprobadas contra el asma y bronquios además de atribuirle actividad antimicrobiana, presenta aceites esenciales en los tricomas (como la mayoría de las asteráceas) en hojas y tallos. (2)

NOMBRES CIENTIFICOS: *Aristeguetia gayana* (Wedd.) King y Robinson, *Eupatorium gayana*, *Eupatorium triplinerve*

NOMBRE COMUN: Asmachilca

DESCRIPCION BOTANICA:

El género *Eupatorium*, con 2200 especies descritas y de estas 250 han sido aceptadas, fue redefinido por R. M. King y H. Robinson. Distribuido en América, Asia oriental, y a lo largo de las montañas de Asia occidental y de Europa. Las especies de América pertenecen a numerosos géneros, unos nuevos, otros restablecidos. Por ejemplo: *Ageratina*, *Aristeguetia*, *Ayapoma*, etc. Es una compuesta de la subfamilia tubuliflora. Las compuestas de esta subfamilia tienen corolas regulares. Carece de látex, pero a menudo tienen esencias.

-Asmachilca: Es una planta herbácea 1 m de altura, con hojas pubescentes alargadas, de fuerte olor, con los bordes dentado y el envés claro. Las flores son compuestas, tubulares, de tonalidad morada. El fruto es de color negro y contiene una semilla pequeña oscura en su interior.

TAXONOMIA

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Orden: Asterales
Familia: Asteraceae
Subfamilia: Asteroideae
Tribu: Eupatorieae
Subtribu: Eupatoriinae
Género: *Aristeguetia*
Especie: *A. gayana*

HABITAT: Florece en verano, su hábitat es junto a las aguas. Sólo sobrevive por encima de 3 000 metros.

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA: En el Perú se ubica en la vertiente occidental de los andes y valles interandinos entre los 3600-4000msnm en los departamentos de Cusco, Puno, Apurímac y Ayacucho.

USOS de los aceites esenciales

Se usan como ingredientes de pastas dentífricas, champús, cremas, aceites para masajes, perfumes, lociones, como aromatizantes, como desinfectantes o desodorantes, en general en muchos productos de aseo de higiene personal y también como saborizantes. (2)

Importancia de los aceites esenciales

Los aceites esenciales eran antes considerados como material de desecho del metabolismo de las plantas, sin embargo los estudios han demostrado la importancia que presentan en la planta al actuar como atrayentes de insectos, como protección, etc. Y más aún la importancia que tiene para el hombre en la fabricación de diversos productos. Los aceites esenciales son generalmente requeridos por su aroma, como especias, agentes saborizantes en los alimentos, por su acción medicinal, antibacterial y fungicida. También como repelentes de insectos, como solventes para pintura, fuente de materia prima y su uso más común en perfumería (2).

MATERIALES Y METODO

Se realizó la extracción del aceite esencial, empleando los métodos de arrastre por vapor y equipo de Clevenger:

Arrastre por Vapor

La extracción del aceite esencial de asmachilca se hizo mediante destilación por arrastre de vapor, para lo cual, este sistema consta de mechero (fuente de calor), trípode y rejilla de asbesto, balón en el cuál se depositará agua, alambique, refrigerante o condensador, pera de decantación, soportes, pinzas. Este método se trabajo con 456gr de muestra fresca (solo hojas)

En la destilación por arrastre con vapor, la muestra vegetal fresca se coloca en un recipiente cerrado y sometida a una corriente de vapor de agua, la esencia así arrastrada es posteriormente condensada, recolectada y separada de la fracción acuosa.

Primero se coloco agua en el balón (aproximadamente las $\frac{3}{4}$ partes del balón). Segundo, la muestra fresca se deposita en la chaqueta del equipo de arrastre por

vapor cuidando que no se obstruya la conexión de vidrio, para no evitar que la corriente de vapor fluya por la muestra y por último se prender el mechero.

Equipo de Clevenger

Obtención de la muestra: Se obtuvieron 865.71 g de la muestras las cuales se sacaron a partir de las hojas y tallos de la planta, La muestra fue triturada al mínimo para tener una mayor área de exposición al ambiente y se aumentará también la disipación del agua al exterior al momento del secado.

Secado: En bandejas de papel craft asegurándonos que el lado lustroso este en contacto con la muestra, la colocamos en trozos pequeños. La Tabla 2 muestra los pesos antes del secado.

	Bandeja 1	Bandeja 2	Bandeja 3
Gramos	271.08	285.35	309.28

Tabla 2 Peso de la muestra antes del secado

A continuación colocamos las muestras en la estufa a 40°C. Se dejo secar por 29 horas y se tomo el peso en diferentes tiempos (Tabla 3)

	BOLSA 1	BOLSA 2	BOLSA 3	
TIEMPO (h)	PESO (g)	PESO (g)	PESO (g)	Peso Neto
0	271.08	285.35	309.28	865.71
4.44	243.48	254.81	262.75	761.04
22.3	118.2	133.57	146.23	398
27.07	116.12	131.48	143.09	390.69
27.57	115.6	131.04	142.64	389.28
28.58	115.58	131.01	142.64	389.23

Tabla 3 Peso de la muestra durante el proceso del secado

Una vez que vimos que el peso de las muestras no varía por más de 2 controles, retirar de la estufa y lo pulverizamos con ayuda de una licuadora.

Obtención del Aceite

Primero colocar la muestra licuada (casi hecha polvo) en el balón de destilación, luego adicionar agua aproximadamente tres volúmenes de agua (700 ml) por volumen de muestra, a su vez el volumen total no debe de exceder los 2/3 del volumen del balón, y por último prender la cocina.

Al calentar el balón se evapora el agua y el aceite volátil, que se condensa en el refrigerante, recogiénose con el agua en el colector, de la cual se separa al cabo de cierto tiempo por diferencia de densidades en la trampa de Clevenger, y finalmente se aísla.

Plaquéado y Sembrado

Se preparo 6 placas de Petri con medio McConkey y como cepa se utilizo E. coli

El método de siembra fue en superficie en el cual se vertió sobre las placa de Petri el medio de cultivo fundido, se dejo solidificar y se coloco sobre la superficie 0.1ml del inoculo (E.coli). Con ayuda de una espátula de Drigalsky se extendió el inoculo hasta su absorción total por el medio de cultivo.

Posteriormente se dividió la placa 4, 5 y 6 en 4 cuadrantes y en cada uno se puso un círculo de papel filtro previamente sumergido en el aceite de asmachilca,

La placa 1 fue de prueba, la placa 2 fue para probar la esterilidad de los trozos de papel, la placa 3 se sembró solamente el inoculo. En la tabla 4 se resume cada placa

Se dejo en incubación a 24°C por 48 horas y después de ese tiempo se midió el diámetro de los halos de inhibición

	McConkey	E.coli	Papel con Aceite
Placa 1	+	-	-
Placa 2	+	-	+/-
Placa 3	+	+	-
Placa 4	+	+	+
Placa 5	+	+	+
Placa 6	+	+	+

Resultados

Arrastre por vapor

No se evidencio la presencia de aceite esencial, pero si la presencia de resina

Equipo de Clevenger

Después de 2 horas de extracción en el equipo de Clevenger, el rendimiento obtenido es de 0.17%. Es decir se obtuvo 1,5 ml a partir de 865.71 gr de muestra fresca.

El aceite esencial de la Asmachilca se presenta en forma de líquido bastante móvil, de color ámbar, que tiene el olor característico de la Asmachilca pero no tiene sabor ardiente, por lo que el sabor ardiente de la especia se debería a una serie de sustancias no volátiles presentes en la oleoresina más no en el aceite esencial

Inhibición de E. coli por efecto del aceite de Asmachilca

El efecto inhibitorio del aceite de asmachilca sobre las cepas de E. coli fue positivo, mostrándose en los siguientes resultados:

En la placa control del medio no se evidencia presencia de algún tipo de microorganismo.

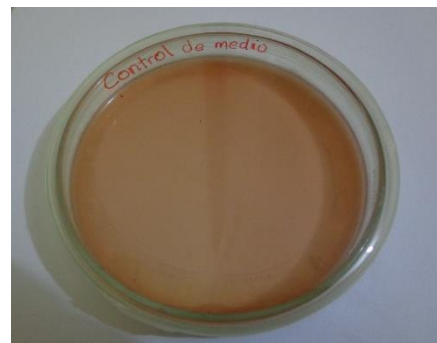


Fig. 1 Placa control

En la placa control de E. coli, no se adiciono ningún tipo de inhibidor, se evidencio el correcto crecimiento de colonias blanquecinas en todo el medio.



Fig. 2 Placa control E. coli

En la placa control de aceite/ control de papel filtro se pudo evidenciar que en la parte superior (control de aceite) no se observó ningún tipo de crecimiento de microorganismos, esta prueba se realizó con la finalidad de observar si el aceite se encontraba estéril, lo que se evidencia en la prueba.

En la parte inferior de la placa (control de papel filtro), si se evidencia crecimiento de microorganismos, con esto se quiso probar si el papel filtro se encontraba estéril, evidenciándose que estaba contaminado.

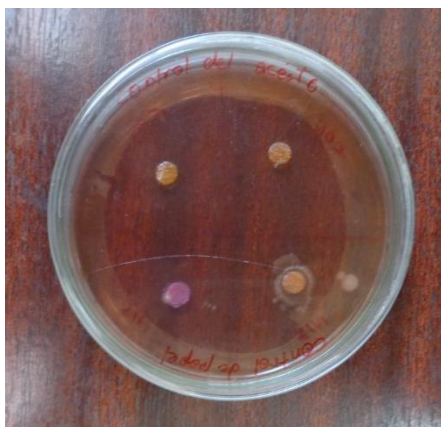


Fig. 3 Placa control de papel y control de aceite

En las figuras 4, 5, 6 correspondientes a las pruebas 1, 2 y 3 podemos evidenciar la inhibición del aceite de Asmachilca sobre el crecimiento de las colonias de E. coli.

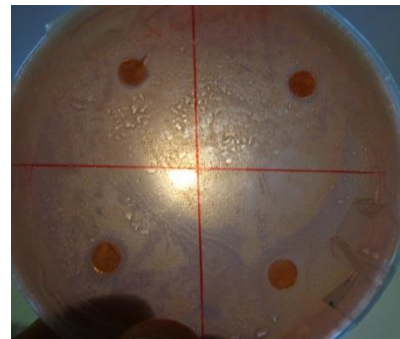


Fig. 4 Prueba 1

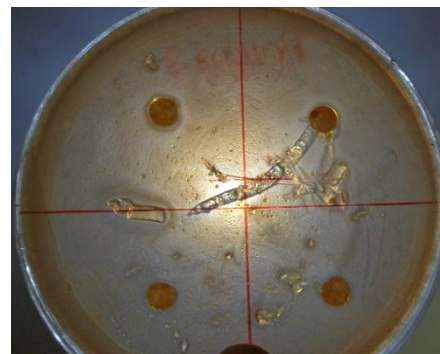


Fig. 5 Prueba 2



Fig. 6 Prueba 3

El siguiente cuadro muestra el halo de inhibición de cada placa.

Discos	Tamaño del Halo de Inhibición (mm)		
	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3
1	8	7	7
2	7	6	8
3	7	10	6
4	6	7	6

Discusiones

Estudios previos

Los resultados de la extracción de aceite de Asmachilca, nos mostro que el método más efectivo para obtenerlo fue utilizando el equipo de Clevenger ya que con este método se obtuvo 1.5ml de aceite a diferencia del método con arrastre de vapor del cual no se obtuvo muestra alguna, Esto contradice lo reportado en un estudio previo realizados por la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Ricardo Palma (3) en el cual indican la obtención de aceite de esta planta por medio del arrastre con vapor. Si bien no indican a partir de cuanta muestra obtuvieron el aceite, si indican la cantidad obtenida, que fue de 153.80 ug/ml.

Una de los posibles motivos por los cuales estos investigadores pudieron obtener el aceite a partir de este método, es el previo secado de la muestra, a diferencia de nosotros que usamos la muestra fresca. Ya que tanto los investigadores de la Universidad Ricardo Palma así como nosotros utilizamos la muestra seca para obtener el aceite por métodos diferentes, vemos que el secado previo es la clave para poder extraer el aceite, muy posiblemente por la ubicación de estos aceites en la planta.

Lo que si nos indican este estudio es que la administración de 0.1 ml/kg vía I.M. previno la broncoconstricción producida por Histamina previamente aplicada a 20 cobayos de 300gr cada uno.

Tipo de Extracción

En general la elección del método de extracción depende de la cantidad y tipo o características del aceite (volatilidad, punto de ebullición de los compuesto, estabilidad a temperaturas elevadas, solubilidad, etc.), como asimismo del órgano vegetal del cual se va a extraer. También un efecto que puede influir mucho en la composición del aceite es el lugar de origen, así como el hábitat en que se desarrolle (por lo general climas cálidos tienen mayor contenido de aceites esenciales), el momento de la recolección, el método de extracción, etc.

En la destilación por arrastre con vapor de agua, la muestra vegetal generalmente fresca y cortada en trozos pequeños, se coloca en un recipiente cerrado y sometida a una corriente de vapor de agua, la esencia así arrastrada es posteriormente condensada, recolectada y separada de la fracción acuosa. Esta técnica es muy utilizada especialmente para esencias muy volátiles, por ejemplo las utilizadas para perfumería. Se utiliza a nivel industrial debido a su alto rendimiento, a la pureza del aceite obtenido y porque no requiere tecnología sofisticada (4). La extracción funciona gracias a que, cuando el vapor entra en contacto con el material vegetal, hace que los compuestos aromáticos, que generalmente poseen un punto de ebullición más bajo que el agua, se vaporicen y sean arrastrados junto con el vapor hasta el condensador, donde se condensan junto con el vapor de agua. También la temperatura del vapor hace que las células y las estructuras vegetales se rompan y liberen mas compuestos esenciales

En cambio con el método de Clevenger, el material a extraer está completamente sumergido en agua, la cual es calentada hasta ebullición, bien sea a través de fuego directo o a través de algún método de calefacción (chaquetas o serpentines de vapor o resistencias eléctricas). La característica principal de este proceso es el contacto directo entre el agua en ebullición y el material. :

El aceite esencial de Asmachilca se presenta en lo tricomas de las hojas, los tricomas son excrecencias de origen epidérmico y de formas muy variables, y pueden ser glandulares o no, estas pequeñas bellezas comienzan a desarrollarse tan pronto como comienza a crecer la planta, pero la verdadera explosión de

tricomas vendrá en la floración. Así mismo el punto de ebullición de los aceites esenciales es muy variable, ya que la composición de las esencias es raramente uniforme. Las esencias se evaporan sin embargo, todas ellas, con el vapor del agua, lo cual permite extraerlas por destilación. Esta operación, sin embargo, las deteriora a todas ellas en mayor o menor grado; al contacto prolongado del calor su perfume se modifica: se afina en las esencias donde es menos agradable; se deteriora en aquellas cuyo perfume es el más fino.

Una de las principales diferencias en cuanto a los dos métodos que se utilizan es la temperatura del agua y del vapor, pues el vapor de agua es mucho más caliente que el agua hervida, porque este ya pasó a una temperatura más alta que el agua (en líquido), éste no puede soportar y pasa a la evaporación. Por ello el método de arrastre con vapor es más utilizable para sustancias de punto de ebullición muy alto, las cuales al calentar el agua esta pasa a estado de vapor, y estos aceites de alta punto de ebullición no sufren desnaturalización.

En cambio según hemos visto, la extracción del aceite de asmachilca fue más eficiente por el método de Clevenger, esto debido a que para el aceite de asmachilca, se necesita un punto de ebullición menor, para que el aceite no se desnaturalice, además, esta desnaturalización se ve afectada por la localización del aceite en los tricomas, es decir en contacto directo con el vapor, en caso de arrastre por vapor.

En el Clevenger al estar la sustancia orgánica en contacto directo con el agua, y debido a que el aceite es más volátil y tiene menor densidad que el agua hace que esta mezcla heterogénea tenga un punto de ebullición menor evitando así la desnaturalización del aceite esencial de la planta.

Inhibición de *E. coli*

El crecimiento de las cepas potencian el efecto antibacteriano de los aceites esenciales ya que estas al crecer e ir consumiendo los nutrientes del medio, tienden a disminuir el pH del medio y a pH bajos, los componentes activos de los aceites esenciales están disociados, lo que también les permite penetrar en la bacteria y matarla. Recientemente también se ha

descubierto que los aceites esenciales inhiben la formación de flagelos en *E. coli*. Sin flagelos *E. coli* no puede moverse por sí misma, lo que afecta a su crecimiento y multiplicación.

Además estudios realizados se ha encontrado que la actividad antimicrobiana presentada por los aceites esenciales se debe, en gran medida, a la presencia de terpenoides; siguiendo en orden de actividad los terpenoides que contienen grupos alcoholes, luego los que poseen aldehídos y por último los que tienen grupos cetónicos. Así mismo, algunos autores plantean que los aceites con un alto porcentaje de compuestos terpenoides del tipo fenólicos poseen notables propiedades antimicrobianas.

A si considerando la variedad de compuestos químicos que se mencionan en el estudio de MARCHA FITOQUÍMICA DE *Aristiguetia gayana*, "ASMACHILCA" (5) realizado por la Universidad Agraria, es muy probable que muchos de estos compuestos terpenoides, afecten al crecimiento celular, así pues uno de los principales mecanismos de acción propuestos para los terpenoides consiste en la disrupción de la membrana celular bacteriana mediante tres posibles vías: aumentando la permeabilidad de la membrana a iones pequeños, afectando la estabilidad estructural de la membrana y desestabilizando el empaquetamiento de la bicapa lipídica, cualquiera de estos efectos produce la muerte en la célula bacteriana.

También en otros estudios de la marcha fitoquímica del asmachilca, se encontró fenoles. Estos compuestos también podrían estar involucrado en el efecto inhibitorio de la asmachilca, pues los compuestos fenólicos producen efectos a dos niveles, sobre la integridad de la pared celular y la membrana citoplasmática y sobre la respuesta fisiológica del microorganismo, sensibilizan a la membrana celular y cuando se saturan los sitios sobre los cuales actúan se produce un grave daño a la membrana citoplasmática. Hay evidencia concretamente que derivados fenólicos tales como el carvacrol y el eugenol provenientes de clavo y tomillo causan la desintegración de la membrana de *E. coli* y *S. typhimurium*. El eugenol (componente mayoritario del aceite de clavo) y el cinamaldehído (componente de la canela) actúan inhibiendo la producción de enzimas

intracelulares, tales como amilasas y proteasas, lo que provoca el deterioro de la pared y un alto grado de lisis celular.

Vemos que más de un compuesto puede intervenir en la acción inhibitoria de Asmachilca es por ello que su actividad antimicrobiana no sea atribuible a un mecanismo específico, sino a la acción combinada de varios de ellos sobre distintas localizaciones de la célula. Sin embargo, el mecanismo de acción específico de estos compuestos aún hoy no ha sido claramente caracterizado

También es muy probable que su actividad bacteriostática y/o bactericida se deba, fundamentalmente, a la sobrecarga a la que es sometida la membrana celular de los microorganismos de forma tal que la hace perder el control y la integridad.

Conclusiones

- 1) La extracción del aceite de Asmachilca fue mucho más eficiente por medio del Clevenger que por arrastre con vapor, debido a su punto de ebullición y a la ubicación del aceite en los tricomas de la planta
- 2) La presencia de los compuestos como terpeos y fenoles en el aceite de Asmachilca podría ser los principales responsables del efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *E. coli*
- 3) Según estudios previos, el aceite de Asmachilca presenta un importante efecto contra la broncoconstricción.
- 4) Los estudios físico-químicos en la planta de Asmachilca son muy escasos, a pesar de las grandes cualidades que esta planta presenta para la medicina humana.

Bibliografía

1. Guarnizo Franco A, Martínez Yepe PN. Experimentos de Química Orgánica Quindío - Colombia: Elizcon.

2. Stasheko EE. Aceites Esenciales Santander Ud, editor. Bucaramanga: Universidad de Santander; 2009.
3. Jurupe Chico H, Herencia Reyes V. Estudio Fito-Farmacológico de la *Aristiguieta persicifolia* (Asmachilca). Revista de la Facultad de Medicina Humana Universidad Ricardo Palma. 2000; 2(1).
4. ALBARRACÍN MONTOYA GC, GALLO PALMA SG. COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE ACEITE ESENCIAL UTILIZANDO PIPER ADUNCUM (CORDONCILLO) PROCEDENTE DE LA ZONA CAFETERA. Informe Final. MANIZALES : UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA, INGENIERIA QUÍMICA; 2003.
5. Arevalo Ortiz FH, Espinoza Tomayquispe PA, Leonardo Ore JR. MARCHA FITOQUÍMICA de *Aristiguieta gayana*, "ASMACHILCA". Lima: Universidad Nacional Agraria la Molina, Departamento de Química; 2014.
6. Vásquez Ribeiro O, Alva A, Marreros Valles J. EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE JENGIBRE (*Zingiber officinale*). Revista Amazónica de Investigación Alimentaria. 2001; 1(1).
7. GONZALEZ VILLA AA. OBTENCIÓN DE ACEITES ESENCIALES Y EXTRACTOS ETANOLICOS DE PLANTAS DEL AMAZONAS. TESIS. MANIZALES: UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA, DEPARTAMENTO DE INGENIERIA QUÍMICA; 2004.
8. Martínez M. A. ACEITES ESENCIALES. Medellín: UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA, Facultad Química Farmacéutica; 2003.
9. Cerutti M, Neumayer F. INTRODUCCIÓN A LA OBTENCIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE LIMÓN. INVENIO. 2004 Junio.
10. Rodríguez Álvarez M, Alcaraz Meléndez L, Real Cosío SM. PROCEDIMIENTOS PARA LA EXTRACCIÓN DE ACEITES ESENCIALES EN PLANTAS AROMÁTICAS. Primera Edición ed.

Noroeste CdIBd, editor. La Paz-Mexico: Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste; 2012.