

INFORME FINAL

Facultad de Agronomía, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso
Fundación para la Innovación Agraria

Nombre del Proyecto:

"Obtención y caracterización de aceites esenciales, extracto seco y materia seca de *Rosmarinus officinalis* y *Thymus vulgaris*, provenientes de cultivos orgánicos y sus aplicaciones en poscosecha e industrialización de alimentos"

Extensión:

"Obtención de materia prima estandarizada y evaluación del extracto de *Rosmarinus officinalis* obtenido en el proyecto C-00-1-A-071 aplicado en la conservación de grasas y aceites de uso humano"

Código: C-00-1-A-071

ABRIL 2005

OFICINA DE PARTES - FIA	
RECEPCIONADO	
Fecha	6-5-05
Hora	17:00
Nº Ingreso	585

I. ANTECEDENTES GENERALES

Nombre del Proyecto:

"Obtención y caracterización de aceites esenciales, extracto seco y materia seca de *Rosmarinus officinalis* y *Thymus vulgaris*, provenientes de cultivos orgánicos y sus aplicaciones en poscosecha e industrialización de alimentos"

Extensión:

"Obtención de materia prima estandarizada y evaluación del extracto de *Rosmarinus officinalis* obtenido en el proyecto C-00-1-A-071 aplicado en la conservación de grasas y aceites de uso humano"

Código: C-00-1-A-071

Región de Ejecución: 5 Región

Fecha de aprobación o adjudicación: Septiembre 2000

Forma de Ingreso al FIA: Ventanilla

Agente Ejecutor:

Nombre : Facultad de Agronomía, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso

Dirección : La Palma s/n

RUT : 81.669.200-8

Teléfono : (33) 310524

Fax : (33) 313222

Representante Legal de Agente Postulante:

Nombre: Pedro Undurraga Martínez

Cargo en el agente postulante: Decano de la Facultad de Agronomía

Agente Asociados:

Período de Extensión: Laboratorio Ximena Polanco

Coordinador del Proyecto:

Nombre: Gabriela Verdugo Ramírez

COSTO DEL PROYECTO

(Valores Reajustados) : \$ 83.375.026

FINANCIAMIENTO SOLICITADO:

(Valores Reajustados) : \$ 55.419.509 66 %

APORTE DE CONTRAPARTE:

(Valores Reajustados) : \$ 27.955.517 34 %

COSTO EXTENSIÓN DEL PROYECTO

(Valores Reajustados) : \$ 26.168.637

FINANCIAMIENTO SOLICITADO

(Valores Reajustados) : \$ 12.486.741 49%

APORTE DE CONTRAPARTE

(Valores Reajustados) : \$ 13.681.896 51%

Período de Ejecución

Noviembre 2000 - Mayo 2003

DURACIÓN: 31 meses

Extensión: junio 2003 – marzo 2005

DURACIÓN: 22 meses

II. RESUMEN EJECUTIVO

El Proyecto "Obtención y caracterización de aceites esenciales, extracto seco y materia seca de *Rosmarinus officinalis* y *Thymus vulgaris*, provenientes de cultivos orgánicos y sus aplicaciones en poscosecha e industrialización de alimentos", y su extensión, el proyecto "Obtención de materia prima estandarizada y evaluación del extracto de *Rosmarinus officinalis* obtenido en el proyecto C-00-1-A-071 aplicado en la conservación de grasas y aceites de uso humano", fueron ejecutados desde noviembre 2000 a mayo 2003 y junio 2003 a marzo 2005.

El objetivo general de la primera parte de la investigación fue caracterizar y obtener los componentes químicos (principios activos) con potencial capacidad antiséptica en tomillo (*Thymus vulgaris*) y antioxidante en romero (*Rosmarinus officinalis*), y evaluar su uso potencial antiséptico y antioxidante, en la poscosecha y conservación de productos hortofrutícolas de cuarta gamma. Además se realizó un Estudio de Mercado de Situación y Proyecciones de productos naturales antisépticos y antioxidantes a nivel mundial.

El objetivo general de la segunda parte de la investigación fue obtener materia prima estandarizada en base a extracto seco de romero y evaluar su aplicación como antioxidante natural sobre sustratos como grasas animales y aceites vegetales.

Se efectuó un seguimiento de su fenología / curva de composición química (compuestos de aceites esenciales en tomillo y romero) y antioxidantes (romero), se obtuvo materia prima seca, aceite esencial y extracto seco, se caracterizaron químicamente y se evaluó su acción antioxidante (romero) y antiséptica (tomillo) sobre poscosecha de frutas (chirimoya y palta) y hortalizas (espárragos y radicchios) con mínimo procesamiento.

La caracterización de los principales compuestos antisépticos (timol) en el aceite esencial de tomillo y antioxidantes (ácido camósico, ácido rosmarínico y ácido ursólico) en materia prima y extractos de romero, verificó la presencia de estos compuestos en las selecciones de tomillo y de romero investigadas y aportó antecedentes cuantitativos sobre la presencia de estos compuestos en ambas especies.

Los resultados de los ensayos en espárragos y en radicchios indicaron en términos generales, que el efecto de la aplicación de aceite esencial de tomillo en solución es comparable a la utilización de tratamientos basados en hipoclorito de sodio.

Respecto al extracto de romero, no se encontraron efectos significativos con relación a los testigos, en las aplicaciones sobre palta y chirimoya (estado de pulpa y troceada). El rol antioxidante del romero no estaría relacionado al pardeamiento enzimático.

Los resultados en la segunda parte de la investigación son positivos tanto para el uso del extracto en aceites y grasas, como para la elaboración de materia prima estandarizada. El extracto de romero presentó buen comportamiento antioxidante sobre aceites vegetales (rosa mosqueta) y grasas animales (cerdo, vacuno, emú). El extracto fabricado es inocuo y no ofrece peligro, además de presentar buenas características físicas, organolépticas, químicas, de estabilidad y facilidad de manejo.

Se espera que los resultados y conclusiones aportados constituyan una base de información que interese a empresas del rubro alimentario, fitofarmacéutico y cosmético para la utilización de estas especies vegetales seleccionadas y caracterizadas, en la elaboración de nuevos productos, y sean consideradas como fuente de interesantes principios químicos de origen natural, sustitutos de sustancias sintéticas empleadas en la conservación de alimentos y con alto potencial fitofarmacéutico y dermocosmético.

III. TEXTO PRINCIPAL

1. Resumen

El Proyecto "Obtención y caracterización de aceites esenciales, extracto seco y materia seca de *Rosmarinus officinalis* y *Thymus vulgaris*, provenientes de cultivos orgánicos y sus aplicaciones en poscosecha e industrialización de alimentos", tiene como objetivo general caracterizar los componentes químicos con capacidad antiséptica en tomillo y antioxidante en romero, de plantas seleccionadas en la Facultad de Agronomía de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso y aplicarlos en poscosecha y conservación de productos hortícolas, para ver su efecto y utilidad.

Para esto se investigó clones de romero y tomillo, seleccionados en la Facultad de Agronomía de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso por su calidad fitoquímica. En la especie tomillo (*Thymus vulgaris*) se multiplicó un clon (objetivo 1), se determinó el porcentaje de aceite esencial y contenidos de timol bajo tres épocas de cosecha y dos estados fenológicos (objetivo 2) y se evaluó el uso de su aceite esencial como antiséptico aplicación en poscosecha (objetivo 3), en particular de espárragos y radicchios.

En la especie romero (*Rosmarinus officinalis*) selección Limache, se caracterizó los principales componentes químicos (antioxidantes ácido carnósico, ácido rosmarínico y ácido ursólico) de la materia fresca y materia seca, durante las cuatro estaciones del año y de aceites esenciales (compuestos cineol, canfor, borneol, alfa y beta pineno) de acuerdo a su floración (objetivo 4), y se comparó la presencia de estos compuestos en la materia fresca, materia seca, extracto seco y aceite esencial (objetivo 5). Luego se evaluó el uso del extracto de romero como antioxidante aplicado en conservación de productos hortícolas mínimamente procesados (objetivo 6), para lo cual se eligió palta y chirimoya como sustratos. Una evaluación general del comportamiento de esta especie cultivada en condiciones de clima mediterráneo (objetivo 7), completó esta parte del estudio del romero.

Los resultados iniciales, las propiedades medicinales y cosméticas del romero, más la necesidad de obtener una materia prima estandarizada encauzaron una segunda etapa del proyecto: "Obtención de materia prima estandarizada y evaluación del extracto de *Rosmarinus*

officinalis obtenido en el proyecto C-00-1-A-071 aplicado en la conservación de grasas y aceites de uso humano”.

El objetivo general de la segunda parte de la investigación fue obtener materia prima estandarizada en base a extracto seco de romero y evaluar su aplicación como antioxidante natural sobre sustratos como grasas animales y aceites vegetales. Para esto se obtuvo un extracto seco de romero en invierno con adición de maltodextrina previo al spray dry (objetivo 1), se caracterizó el extracto seco de romero de verano e invierno en relación a la cuantificación química de compuestos antioxidantes y el estudio de la Dosis Letal 50 (objetivo 2) y se evaluó el uso del extracto seco de romero de invierno y verano sobre aceite de emú, grasas de cerdo, vacuno, salmón y sobre aceite de rosa mosqueta (objetivo 3).

Varios aspectos generales justificaron la realización del proyecto: validar el uso antiséptico/antioxidante de las especies tomillo y romero, para un mejor aprovechamiento industrial (alimentos, cosmética, fitofarmacia), la obtención de productos naturales que puedan sustituir sustancias sintéticas o de riesgo para la salud, destacar las propiedades de estas especies para su uso en la salud humana (antisépticas, antioxidantes, antimutagénico, antilipoperoxidante, antitumoral, antiinflamatorio, etc.) y desarrollar una investigación agrícola dirigida a la industria, con una materia prima caracterizada químicamente desde la planta.

Otro aspecto interesante es la elaboración de un extracto de romero proveniente de cultivo orgánico y con un método de obtención compatible con los criterios de elaboración de productos ecológicos, como un potencial aditivo en este tipo de productos. La aplicación y evaluación del extracto como agente antioxidante en frutas frescas de palta y chirimoya se efectuó esperando minimizar el deterioro de estos productos al industrializarlos, lo que favorecería en gran medida a estos rubros. El empleo de aceite esencial de tomillo en tratamientos de poscosecha como una alternativa al empleo de hipoclorito de sodio, puede ser de gran beneficio a la salud de los operarios y al medio ambiente.

En términos generales la metodología empleada para el logro de los objetivos fue la siguiente: La materia prima (follaje fresco y seco) de tomillo y romero fue obtenida de cultivos orgánicos desarrollados en terrenos de la Estación Experimental La Palma, Facultad de Agronomía, PUCV. Se realizó muestreos de follaje y análisis químicos de los principales compuestos antioxidantes (ácido carnósico, ácido rosmarínico, ácido ursólico) y antisépticos (timol) de

ambas selecciones, para definir las aplicaciones en los diferentes sustratos (espárragos, radicchios, paltas, chirimoya), en poscosecha.

El extracto seco de romero fue obtenido por Spray Dry a partir de hierba fresca o seca de romero. Los métodos analíticos empleados para evaluar los compuestos antioxidantes fueron: Cromatografía Líquida (HPLC), con detector UV, para el ácido carnósico y ácido rosmarínico (follaje y extractos) y método Gravimétrico para el ácido ursólico (muestras de follaje). Para conocer el poder antioxidante de los extractos sobre grasas y aceites se realizó un análisis Rancimat.

Los aceites esenciales de tomillo se obtuvieron por destilación simple con arrastre de vapor de agua, y fueron analizados con Cromatografía de Gases con Detector de Ionización de Llama, para detectar y cuantificar el timol en la esencia.

En la etapa de Extensión del Proyecto se evaluó extracto seco con maltodextrina, de uso fitofarmacéutico. También se realizó un estudio microbiológico y un estudio de Dosis Letal 50 para determinar calidad e inocuidad del extracto. Así mismo, se ampliaron los estudios de aplicación del extracto antioxidante de romero en aceites y grasas animales (emú, vacuno, cerdo, salmón) y aceites vegetales (rosa mosqueta).

El tomillo seleccionado obtuvo un máximo rendimiento de timol en cosechas de verano (22-24%), lo que permitió continuar con aplicaciones como antiséptico sustituto del cloro en tratamientos de poscosecha de espárragos y radicchios. Se concluyó que el uso de aceite esencial bajo las condiciones de los ensayos, tiene iguales o mejores resultados que la aplicación de cloro convencional.

El romero selección Limache, presentó los tres antioxidantes en estudio tanto en estado de hierba fresca como en hierba seca (follaje). Además del genotipo de las plantas, se observó que los contenidos de antioxidantes están influenciados por las estaciones del año, los procesos de secado de la hierba fresca, de obtención de extractos (uso de alcohol, temperaturas, luz) y las condiciones ambientales (luz, temperatura, aire y humedad) en su conservación. También es relevante el método analítico empleado para los análisis de composición.

En los ensayos de aplicación de extracto seco de romero como agente antioxidante en frutas frescas de palta y chirimoya, no se encontró efecto antioxidante significativo bajo las condiciones del experimento. Los compuestos antioxidantes del extracto en esta experiencia demostraron no tener control sobre la enzima polifenoloxidasas responsable del pardeamiento y deterioro de estos productos al industrializarlos.

Los resultados de un Análisis de Estabilidad determinado por Método Rancimat, destacaron el buen comportamiento antioxidante, del extracto seco de romero selección Limache, sobre el aceite de rosa mosqueta.

El extracto seco con adición de maltodextrina cumplió con las especificaciones de calidad microbiológica y el estudio de Dosis Letal 50 demostró que el extracto fabricado es inocuo, lo que permite la formulación de un producto. El extracto fue estandarizado a escala semi-piloto y se obtuvo una materia prima adecuada para usos cosméticos y fitofarmacéuticos.

El extracto aplicado como antioxidante en grasas y aceites, destacó su efecto antioxidante sobre las grasas de cerdo, emú y vacuno, con una acción comparable a extractos comerciales.

Aún cuando la investigación se efectuó a escala semi-piloto, este resultado entrega alternativas viables a la actual necesidad de la industria alimentaria de sustituir sustancias sintéticas antioxidantes que son adicionadas en los alimentos, especialmente en la elaboración de productos para niños. También podría ser un potencial antioxidante natural en productos orgánicos elaborados.

Se espera que tenga un efecto fomentando el empleo de antisépticos naturales en las prácticas agrícolas de poscosecha, especialmente si existe interés en desarrollar la cadena de producción orgánica para un determinado rubro.

El Proyecto también propone cambios en los hábitos de consumo de los alimentos, eventualmente, la eliminación de sustancias de riesgo de los alimentos y del medioambiente, trae el mayor beneficio para la salud humana.

Desde el punto de vista fitofarmacéutico, nutracéutico y dermocosmético también fomenta el empleo de extractos provenientes de selecciones vegetales caracterizadas e identificadas químicamente, como parte de un proceso de estandarización del producto final.

El Laboratorio Ximena Polanco está incursionando en la aplicación del extracto en formulaciones farmacéuticas (cremas, lociones, cápsulas, otros) y en alimentos funcionales (mermeladas, chocolates, etc.) y propone desodorizar el extracto y diseñar el escalamiento industrial para su uso como preservante en la industria alimentaria y cosmética

2. Cumplimiento de los objetivos del proyecto

Todos los objetivos fueron desarrollados, en su mayoría en los plazos establecidos para cada uno de ellos.

Se pudo caracterizar y obtener los componentes químicos con potencial capacidad antiséptica (timol) en tomillo y antioxidante (ácido carnósico, ácido rosmarínico, ácido ursólico) en romero y se evaluó el uso potencial de tomillo como antiséptico y romero como antioxidante, en la poscosecha y conservación de productos hortofrutícolas mínimamente procesados

Así mismo se Realizó un Estudio de Mercado de Situación y Proyecciones de productos naturales antisépticos y antioxidantes a nivel mundial

Respecto a los resultados obtenidos en relación a los objetivos parciales planteados se tiene:

1. Aumentar la población de un clon seleccionado de tomillo

Se logró aumentar la población de un clon de tomillo, seleccionado por sus características productivas de una población de plantas madres. Sin embargo el clon seleccionado no tenía características de quimiotipo timol, sino tipo terpineol. Esto fue porque la selección del material vegetal por contenidos químicos requiere de un período más extenso de investigación y no fue considerado en la reformulación del proyecto. No alteró los ensayos ya que el contenido de timol de la esencia (sobre 20%) le permitió mantener las características antisépticas

2. Determinar la composición química y porcentaje de aceites esenciales en tomillo bajo tres épocas de cosecha y dos estados fenológicos

Se pudo determinar el mejor estado y época de cosecha para la obtención de aceite esencial de tomillo. Esta correspondió a la plena floración de verano, alcanzando 23,4-24,4 % de timol y 1,35 % de aceite esencial. El período más adverso es pleno invierno. El objetivo inicial era dos épocas de cosecha y tres estados fenológicos (follaje, inicios de floración y plena floración), pero se optó por dos estados (follaje y plena flor), por la heterogeneidad en la apertura de las flores dentro de la misma planta. El muestreo de invierno se agregó para completar los análisis químicos y permitió reunir más antecedentes sobre el comportamiento de la planta.

3. Evaluar el uso de tomillo como antiséptico bajo dos combinaciones de aplicación en poscosecha de frutas y hortalizas y conservación de productos de cuarta gamma (productos mínimamente procesados)

Se aplicó el aceite esencial en solución en poscosecha de espárragos y de radicchios, en relación al tratamiento tradicional con hipoclorito de sodio. Se eligieron estas especies a diferencia de las inicialmente propuestas (limones, apio, lechugas), por su importancia para el mercado de exportación y porque provenían de cultivos orgánicos. Los resultados indicaron en términos generales, que el efecto de la aplicación de aceite esencial de tomillo en solución es comparable a la utilización de tratamientos con hipoclorito de sodio. Esto significa una alternativa apropiada para los productores de estos rubros.

4. Caracterizar los principales componentes químicos (antioxidantes) de la materia fresca, materia seca en romero durante el año y de aceites esenciales de acuerdo a su floración

De acuerdo a este objetivo, el resultado del estudio dio a conocer el comportamiento de los principios antioxidantes y del aceite esencial de romero. Se verificó la presencia de los tres compuestos antioxidantes analizados durante las cuatro temporadas del año. El ácido rosmarínico mantiene un rango estable (0,49-1,3%), el ácido carnósico aumenta hacia primavera-verano (5,6%), con un mínimo en invierno (2%), y el ácido ursólico tiene un comportamiento irregular, con un mínimo en verano (3,7%) y alzas en primavera (6,43%) y otoño (11-13 %). Los aceites esenciales evaluados en verano, otoño y primavera, en estado de follaje, inicios de floración y plena floración dieron 2,7 a 3,5 % de aceite esencial sobre hierba

seca y se observó que los compuestos analizados mantienen su proporción entre ellos: a y b pineno 15-21,7% ; cineol: 22,8-26,9 % ; canfor: 15,2-26 % ; borneol: 1,2-4,8%, constituyendo un 62,8-71,5% del aceite esencial.

5. Comparar los principales componentes químicos de materia fresca, materia seca, extracto seco y aceite esencial de romero

Este objetivo fue el más complejo porque inicialmente se propuso comparar los componentes en estudio (antioxidantes y componentes del aceite esencial), de la materia fresca y seca, del extracto seco y del aceite esencial, obtenidos en una misma cosecha, en las cuatro estaciones.

Sin embargo, para elaborar el extracto seco fue necesario realizar varias evaluaciones del proceso, que no estaban inicialmente contempladas, para determinar cual era el más adecuado. Esto significó redistribuir los análisis de antioxidantes, y no realizar aquellos muestreos de los cuales ya teníamos antecedentes previos: antioxidantes en follaje fresco/seco en las cuatro temporadas y aceites esenciales; de estos sólo se mantuvo dos análisis de materia fresca (invierno y verano) y uno de aceite esencial de romero (invierno), para reforzar la interpretación de resultados.

Se amplió el estudio del extracto seco con análisis de verificación del proceso de obtención y de determinación del residuo sólido (otoño, invierno, primavera), los cuales determinaron las condiciones adecuadas para obtener el extracto de verano. Este último extracto se empleó para los ensayos y evaluaciones posteriores. En este proceso también se obtuvo el extracto con dos equipos de Spray Dry, uno de laboratorio y otro a escala semi piloto. Todo el proceso de obtención del extracto fue desarrollado por el Laboratorio Ximena Polanco, con prestación de servicios para el Spray Dry.

Este objetivo tuvo resultados promisorios; el extracto elaborado a partir de hierba seca, en verano, alcanzó los más altos niveles de antioxidantes (9% de ácido carnósico y 4,2 % de ácido rosmarínico), atribuido a una optimización del proceso. Se detectó la presencia del ácido ursólico, pero el método gravimétrico empleado para analizar su contenido en el extracto seco (polvo), no dio resultados confiables (% muy elevados). El proceso de fabricación del extracto requiere de condiciones controladas, con una mínima exposición a la luz y al solvente etanol.

6. Evaluar el uso de romero como antioxidante bajo seis combinaciones de aplicación en conservación de productos hortícolas de cuarta gamma (mínimamente procesados)

La aplicación del extracto antioxidante se efectuó sobre palta y chirimoya porque son los sustratos más difíciles de industrializar por su tendencia al pardeamiento. El ensayo se hizo con varias dosis de extracto y sobre sustratos troceados y molidos, con un resultado no significativo para las condiciones del ensayo. El rol antioxidante del romero no estaría relacionado al pardeamiento enzimático y tampoco sería, bajo estas condiciones experimentales, una alternativa viable para solucionar este problema.

7. Evaluar el comportamiento del cultivo de romero en condiciones de clima mediterráneo

Este objetivo se cumplió y reveló un buen comportamiento de la planta bajo condiciones más extremas de temperatura (-6°C) en invierno. La floración se concentró en primavera-verano, a diferencia de floraciones invernales en los cultivos de Quillota. Sus aceites esenciales mantienen la proporción de los componentes a y b pineno, cineol, canfor y borneol, con ligera disminución del b-pineno y aumento del canfor.

8. Elaborar un Estudio de Mercado de Usos de antisépticos y antioxidantes naturales y sus proyecciones futuras

El estudio fue realizado y entregado en el transcurso del proyecto.

Objetivos de la Extensión

Los objetivos de la extensión también fueron logrados, se obtuvo materia prima estandarizada y evaluó el comportamiento del extracto de romero aplicado sobre grasas y aceites.

Se obtuvo un polvo seco, amarillo, sin grumos, homogéneo y aromático (extracto puro y extracto con maltodextrina), cumplió con las especificaciones de calidad microbiológica y es inocuo de acuerdo a la Dosis Letal 50. También se pudo detectar la disminución de los antioxidantes durante el almacenaje, con una mayor pérdida en el ácido carnósico y a temperatura ambiental. La aplicación del extracto sobre grasas y aceites presentó una acción comparable a extractos comerciales, y destacó su efecto antioxidante sobre las grasas de cerdo, emú y vacuno.

3. Aspectos metodológicos del proyecto

Los ensayos se realizaron en La Estación Experimental La Palma, de la Facultad de Agronomía de la Universidad Católica de Valparaíso. En la investigación se empleó material vegetal de plantas madres de romero y tomillo pertenecientes a la Facultad.

De un universo de 10 tipos de plantas madre se seleccionó un clon de tomillo, que presentó buenas características aromáticas y productivas (morfología y aroma de la hoja y hábito de crecimiento de la planta). El romero elegido para la investigación fue la selección Limache (plantas de cuatro temporadas), con una producción de 3-4% de aceite esencial. La parcela experimental dispuso de riego tecnificado y cintas de riego con un gasto de 4 litros/m lineal/hora.

Resumen de la metodología inicial

De acuerdo a los objetivos tenemos:

Objetivo 1. Aumentar la población del clon seleccionado de tomillo

Propagación vegetativa de esta especie, por medio de esquejes con el uso de dos concentraciones de reguladores de crecimiento y uso de calefacción (con y sin calefacción).

Períodos: noviembre-diciembre (2000), marzo-abril (2001) y octubre-noviembre (2001).

Análisis estadístico de los datos: Modelo Completo al Azar con arreglo factorial (2x2)

Objetivo 2. Determinar la composición química y porcentaje de aceites esenciales en tomillo bajo dos épocas de cosecha (primavera y verano-otoño) y tres estados fenológicos (follaje, inicio de flor y plena floración).

Se estimó dos floraciones durante una temporada de crecimiento, y obtención de materia fresca, materia seca y aceite esencial para determinar las fluctuaciones en los contenidos de Tymol y Carvacrol en los distintos estados fenológicos de esta especie.

Objetivo 3. Evaluar el uso de tomillo como antiséptico bajo dos combinaciones de aplicación en poscosecha de frutas y hortalizas y conservación de productos de cuarta gamma

Lugar de realización: Laboratorio de Poscosecha e Industrialización de la Facultad.

Formas de aplicación: aceite esencial de tomillo y aceite esencial de tomillo + un coadyuvante.

Sustratos: limones, lechuga, apio troceado y pulpa de palta.

Variables a medir: presencia de microorganismos, síntomas de pudrición, cambios de color y aroma en los sustratos correspondientes.

Otras observaciones: análisis de calidad (nivel de jugos, % ácido ascórbico, color y sólidos solubles) y enzimáticas.

Se consideró almacenaje en cámara de frío.

Objetivo 4. Caracterizar los principales componentes químicos de materia fresca, materia seca en romero durante el año y de aceites esenciales de acuerdo a su floración

Se planificó cosechas de materia fresca y seca (obtenida por medio de secado artificial a 35°C, 48 horas) en verano, otoño, invierno y primavera y análisis químicos de esta materia prima para detectar la presencia y contenidos de los siguientes compuestos antioxidantes: Ácido carnósico (carnosic acid), Ácido rosmarínico (rosmarinic acid), Ácido ursólico (ursolic acid)

Para el estudio de los aceites esenciales se estimó tres floraciones durante el año y cosechas de materia fresca en estado de follaje, inicio de floración y plena floración. Para la obtención de aceites esenciales se propuso la adquisición de un destilador semiindustrial.

Los compuestos definidos para el análisis de composición fueron: Cineol (1.8 cineole), Canfor (camphor), Borneol, Alfa y beta Pineno

Objetivo 5. Comparar los principales componentes químicos de materia fresca, materia seca, extracto seco y aceite esencial de romero

Se planificó obtener materia fresca en otoño, invierno, primavera y verano y a partir de ésta la materia seca, mediante secado artificial a 35 °C por 48 horas.

La obtención del Extracto seco con la metodología Spray Dry.

La obtención del aceite esencial, por medio de destilación simple con arrastre de vapor, como en el objetivo anterior.

Los compuestos definidos para el análisis de composición fueron: Cineol (1.8 cineole), Canfor (camphor), Borneol, Alfa y beta Pineno.

Objetivo 6. Evaluar el uso de romero como antioxidante bajo seis formas de aplicación en conservación de productos hortícolas de cuarta gamma (minimamente procesados)

Lugar de realización: Laboratorio de Poscosecha e Industrialización de la Facultad.

Formas de aplicación: materia seca, extracto seco y aceite esencial de romero, solos y con coadyuvante.

Sustratos: chirimoya troceado, palta troceada y apio troceado, mantequilla, aceites comestibles. Las variables a medir: presencia de microorganismos, síntomas de oxidaciones y pardeamientos, enranciamiento, cambios de color y aroma.

Análisis estadístico de los datos: Modelo Completo al Azar con Arreglo Factorial (5x2)

Objetivo 7. Evaluar el comportamiento del cultivo de romero en condiciones de clima mediterráneo.

Seguimiento de un cultivo de romero Selección Limache en La Estación Experimental El Guindal, en la comuna de Los Andes. Se planearon visitas periódicas con el fin de analizar la fenología y adaptación del cultivo a dichas condiciones.

Objetivo 8. Elaborar un Estudio de Mercado de Usos de Antisépticos y Antioxidantes Naturales y sus proyecciones futuras

Se planeó recurrir a los servicios de un profesional con experiencia en investigación de mercados, capacitado para entregar de manera clara una perspectiva futura del uso de este tipo de productos a nivel nacional e internacional.

Extensión Objetivo 1. Obtener un extracto seco de romero (invierno) con adición de maltodextrina previo al Spray Dry

Procedimiento para la obtención del extracto seco con maltodextrina:

- 1 Cosecha de follaje de romero
- 2 Secado del material vegetal (% de humedad final entre 8 y 10%)
- 3 Acondicionamiento del material
- 4 Extracción con solvente (etanol/ agua)
- 5 Clarificación del extracto
- 6 Concentración del extracto
- 7 Proceso de secado- Spray Dry: (con adición de maltodextrinas al extracto concentrado)

Análisis Microbiológico del extracto

Estudio de estabilidad de la fórmula

Extensión Objetivo 2. Caracterizar el extracto seco de romero de verano e invierno-primavera en relación a la cuantificación química de compuestos antioxidantes y el estudio de la Dosis Letal 50

Metodología de obtención de extracto seco de romero: corresponde a la misma metodología descrita anteriormente, excluyendo la adición de maltodextrina

Metodología de Análisis de antioxidantes:

Análisis desarrollados por el Laboratorio de Química Analítica de la Universidad Federico Santa María.

Los métodos analíticos empleados son.

Cromatografía Líquida (HPLC) con detector UV: ácido carnósico y ácido rosmarínico

Gravimetría: ácido ursólico

Estudio de la Dosis Letal 50 (extracto con maltodextrina)

Estudio realizado por el Dr. Jaime Rodríguez, Universidad de Talca

Extensión Objetivo 3. Evaluar el uso de un extracto seco de romero de invierno y verano sobre aceite de emú, manteca vegetal y aceite de rosa mosqueta

Para cumplir con este objetivo se subcontrató a la Unidad de Aceites de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de Chile.

Descripción de la Metodología efectivamente utilizada, detalle de los protocolos y métodos, con referencia a algunos problemas enfrentados, soluciones y modificaciones introducidas

Objetivo 1 Aumentar la población del clon seleccionado

Se emplearon esquejes herbáceos y semileñosos y no se empleó calefacción.

Los ensayos se efectuaron en primavera-verano, otoño-invierno.

Por las características morfológicas de las plantas madre se empleó esquejes herbáceos y semileñosos y se excluyó la calefacción, ya que se observó facilidad de enraizamiento (ensayos previos).

En primavera se seleccionó cinco ejemplares de tomillo de 3 años de edad, del plantel madre, de acuerdo a: homogeneidad en tamaño, hábito de crecimiento, color de follaje y estado de floración. De estas finalmente se dejaron 3 plantas madres (al observar floración) para la propagación de otoño. La propagación vegetativa por medio de estacas se efectuó rebajando las plantas a 10 cm de altura desde la base. De las ramas y ramillas obtenidas se diferenciaron estacas herbáceas y semileñosas, cortadas a 10-12 cm de longitud. Se dejaron 1 o 2 crecimientos laterales, eliminando el resto. La base de las estacas se sumergió durante 10 segundos en solución hidroalcohólica de IBA con 400 y 800 ppm para estacas herbáceas y 800

y 1000 ppm para estacas semileñosas. Se dejó un tratamiento testigo que correspondió a "sin uso" de regulador de crecimiento.

El ensayo se estableció al interior del vivero de propagación, en una cama de enraizamiento que posee sistema de "mist". Se identificaron 3 repeticiones para cada tratamiento distribuidas completamente al azar. El sustrato utilizado correspondió a una mezcla para enraizamiento en base a perlita, corteza de pino, arena, "compost" y una fertilización base (NPK).

Las mediciones se realizaron a partir de las 8 semanas de establecido el 1º ensayo y a las 11-12 en el 2º ensayo, sacando las estacas y midiendo largo de raíz. Las estacas resultantes se trasladaron a macetas (Nº10) continuando su cuidado en el vivero (riego, desmalezado, revisión sanitaria) hasta el transplante.

La nueva multiplicación de primavera se hizo con los mejores resultados de propagación anteriores (esquejes herbáceos y 400 ppm IBA). Para esto se seleccionaron ejemplares de la primera plantación y se multiplicaron esquejes en forma masiva, durante primavera. El período de enraizamiento se completó en 4 semanas pero los esquejes se dejaron crecer hasta principios de marzo para efectuar transplante directo a terreno. Sus cuidados en el vivero fueron: riego, desmalezado, revisión sanitaria, hasta el transplante. El transplante a raíz desnuda se hizo con días nublados al comienzo del otoño para no arriesgar las plantas a deshidratación. En la hilera de plantación se aplicó "compost" en dosis de 2 kg/m².

Objetivo 2. Determinar la composición química y porcentaje de aceites esenciales en tomillo bajo tres épocas de cosecha y dos estados fenológicos (follaje y floración)

Inicialmente se estimó dos floraciones durante una temporada de crecimiento, y obtención de materia fresca, materia seca y aceite esencial para determinar las fluctuaciones en los contenidos de Tymol y Carvacrol en los distintos estados fenológicos de esta especie. Sin embargo en la primera cosecha se observó la heterogeneidad en la apertura de flores dentro de la misma planta y se redefinieron dos estados de cosecha: follaje y floración. También se consideró la utilidad de un muestreo en pleno invierno para ver la respuesta del aceite esencial a estas condiciones.

En estado de follaje o de floración se cosecharon plantas elegidas al azar, en cantidad de 10 plantas por cada muestra. La hierba fresca se sometió de inmediato a extracción del aceite esencial mediante arrastre con vapor. La hierba destinada a secado (hasta 10-12 % humedad) se distribuyó homogéneamente en las bandejas del secador artificial, y permaneció 48 horas con temperatura de 30-35°C . Luego se destiló mediante arrastre con vapor.

El proceso de destilación se efectuó a presión atmosférica, temperatura de vapor 100 – 105 °C y 1 hora 10 minutos como tiempo de extracción, desde que condensa la primera gota.

Como norma general el aceite esencial extraído se mide (cc) y envasa en un recipiente de vidrio hermético, que no permite el paso de la luz ni la volatilización de la esencia. Luego las muestras son llevadas a refrigeración, a temperaturas de 5 a 8°C y conservadas hasta su respectivo análisis de composición. La determinación de aceite esencial se hace con relación al peso de la muestra, que tiene diferente peso según la humedad de sus tejidos. Los centímetros cúbicos obtenidos son convertidos a gramos a través del peso específico del aceite esencial. El resultado se expresa en % sobre peso/peso y se puede extrapolar a rendimientos por unidad cosechada (ej. Kg de aceite esencial/hectárea de acuerdo a un determinado método de extracción).

El análisis químico fue realizado por el Laboratorio de Química Analítica de la Universidad Técnica Federico Santa María, y el Método Cromatografía de Gases con Detector de Ionización de Llama. Se solicitó análisis de timol – carvacrol, porque el carvacrol , aún cuando no es un compuesto predominante en este quimiotipo, está presente y también es antiséptico.

Objetivo 3. Evaluar el uso de tomillo como antiséptico bajo dos combinaciones de aplicación en poscosecha de frutas y hortalizas y conservación de productos de cuarta gamma

Este objetivo se desarrolló a través de dos Talleres de Titulación, en el Laboratorio de Poscosecha e Industrialización de la Facultad de Agronomía.

Los sustratos se redefinieron, optando por espárragos y radicchios ya que son cultivos de exportación y con mayores proyecciones económicas, además e existir interés en su producción orgánica.

Ensayo de aplicación en espárragos: Taller de Titulación del alumno Alejandro Olivares

Se evaluó el uso de aceite esencial de tomillo en poscosecha de espárragos como sustituto del hipoclorito de sodio utilizado en la producción comercial y para esto se determinó el efecto de tres dosis de aceite esencial en solución aplicadas en el lavado inicial del proceso de la poscosecha.

Se empleó el aceite esencial de tomillo con niveles de 1,35 % de aceite esencial sobre materia seca y 22,5% de timol y 1-1,4% de carvacrol extraído mediante destilación con arrastre con vapor.

Se utilizó espárragos de la variedad: UC-72, de una esparraguera comercial ubicada en la localidad de Colina, Región Metropolitana. El turión correspondió al calibre Extra Large, de color verde, brácteas cerradas, rectos y sin daños físicos evidentes. En el proceso de packing se aplicó hidrogenfriado durante 5 minutos, con el agua a una temperatura de 0.5°C. El material vegetal destinado al Tratamiento T1: Testigo comercial (con hipoclorito de sodio) recibió durante el proceso de hidrogenfriado la dosis de 300 ppm de hipoclorito de sodio para controlar hongos y bacterias. Los turiones se embalaron en cajas de cartón impermeabilizado y fueron transportadas (tres horas) a la estación experimental de La Palma para continuar con las aplicaciones de las soluciones de aceite esencial de tomillo.

Los tratamientos elegidos fueron:

- T0: Testigo absoluto sin aplicación (agua destilada)
- T 1: Testigo comercial (con hipoclorito de sodio 300 ppm)
- T2: Aceite esencial a concentración de 140 ppm sobre agua destilada (31,5 ppm timol)
- T3: Aceite esencial a concentración de 280 ppm sobre agua destilada (63 ppm timol)
- T4: Aceite esencial a concentración de 420 ppm sobre agua destilada (94,5 ppm timol)

La concentración se decidió basándose en la cantidad de timol del aceite esencial y la dosis que controla todos los hongos de poscosecha según bibliografía.

Cada tratamiento se aplicó sobre 9 paquetes de espárragos de 500 gr aprox. (3 paquetes por 3 repeticiones) sumergiéndolos en la solución por 1 minuto y se ubicaron en cajas separadas. Luego se sometieron a un período de almacenamiento en frío (a 2° C y 90 - 95% de humedad

relativa, en oscuridad) .y a un período de comercialización simulada (fueron 7° C, con luz artificial alternada con oscuridad) por 3 días.

Evaluaciones:

Se hicieron evaluaciones a los 0, 14 y 28 días

VARIABLES A EVALUAR: color, grado de cicatrización de la base de los turiones, apertura de brácteas, peso, largo del turión, ph, acidez titulable, los sólidos solubles, la relación sólidos solubles/ acidez y la presencia de enfermedades en los turiones (sintomatología visual). Los patógenos frecuentes en poscosecha son: *Erwinia carotovora*, *Botrytis spp.*, *Esclerotinia spp.*, *Fusarium spp.*, *Penicillium spp.*, *Phytophthora spp.*

El modelo en general correspondió a un diseño Multifactorial siendo los factores involucrados el tiempo y los tratamientos.

Ensayo de aplicación en radicchios: Taller de Titulación de la alumna Pilar Pérez

Se evaluó el efecto del uso del aceite esencial de tomillo, sobre la incidencia de *Erwinia carotovora* y sobre la calidad final del radicchio en almacenaje refrigerado, a través de la aplicación de diferentes concentraciones de aceite esencial de tomillo. Se esperó que la aplicación de esencia de tomillo fuera igual o más eficaz en reducir la presencia de *Erwinia carotovora* en radicchios con respecto al método químico tradicional, generando una alternativa de control orgánico sobre esa enfermedad.

Los Radicchios fueron aportados por un productor de Limache y recién cosechados se trasladaron al laboratorio de Poscosecha. Se limpiaron de hojas externas y se seleccionaron para tener la mayor homogeneidad de cabezas. Luego se realizaron las aplicaciones de las soluciones con un pulverizador.

Los Tratamientos corresponden a:

- T1: Testigo comercial: con 200 ppm de hipoclorito de sodio
- T2: Esencia de Tomillo dosis 100 ppm
- T3: Esencia de Tomillo dosis 200 ppm
- T4: Esencia de Tomillo dosis 300 ppm

La unidad experimental fue a una bandeja con 5 Radicchios, con 4 repeticiones por tratamiento y 4 tratamientos. Las bandejas se distribuyeron completamente al azar en la cámara

refrigerada, a 1°C de temperatura y con 95% humedad relativa. El período de almacenaje fue de 30 días.

Las variables a medir fueron: presencia / ausencia de *Erwinia carotovora* (revisión de muestras en el laboratorio de Fitopatología de la facultad de Agronomía de la UCV), presencia / ausencia de manchas, cambio de color externo, aroma (mediante un panel sensorial), sabor (panel sensorial). Las variables color, % de manchas, % de presencia de bacteria y pérdida de peso se analizarán con el modelo completo al azar con arreglo factorial 4 x 4.

Objetivo 4 Caracterizar los principales componentes químicos (antioxidantes) de la materia fresca y seca de romero durante el año y de aceites esenciales de acuerdo a su floración

Metodología para el estudio de Antioxidantes:

Se hizo un muestreo de ejemplares de romero de 4 años (investigación UCV-FIA 014/94) mediante la recolección de ramillas terminales de plantas en estado vegetativo y con algunos brotes en floración. La toma de muestras para los análisis fue al azar de una población de 360 plantas, excluyendo las orillas. Se realizó un análisis por temporada: otoño, invierno, primavera (2001), y verano (2002)

Para la obtención de materia seca se utilizó el secador artificial del laboratorio de extracción, donde las muestras permanecieron 48 horas con temperatura de 30-35°C. La muestra fresca empleada para el análisis de antioxidantes se cosechó por la tarde y se llevó de inmediato al laboratorio de Química Analítica, donde fue analizada desde la 1ª hora el día siguiente. Ambas muestras fueron mantenidas en ambiente seco y fresco hasta su análisis químico.

El método analítico empleado en los antioxidantes fue:

Ácido rosmarínico: Cromatografía Líquida con detector Ultravioleta (HPLC-UV)

Ácido carnósico: Cromatografía Líquida con detector Ultravioleta (HPLC-UV)

Ácido ursólico: Método Gravimétrico.

Cabe destacar que el Laboratorio de Química Analítica de la Universidad Técnica Federico Santa María desarrolló los Métodos para el análisis de las muestras, que incluyó la búsqueda de información bibliográfica, adquisición y preparación de estándares de compuestos puros, con diversos ensayos realizados por el Laboratorio para definir las condiciones que permitieron una

clara separación e identificación del ácido rosmarínico y del ácido carnósico. El método de análisis del ácido ursólico difiere completamente porque este compuesto tiene otro comportamiento espectroscópico. El Laboratorio de Química Analítica desarrolló para este un método Gravimétrico que fue aplicable en las muestras de follaje pero no para extractos secos y con maltodextrinas.

Metodología para el estudio de Aceites Esenciales:

En verano, otoño (2002) y verano (2003) se realizaron los muestreos de romero en estado de follaje, inicios de flor y plena flor para la extracción del aceite esencial y análisis de su composición. Una vez cosechadas se procedió a destilar las muestras para obtener aceite esencial de hierba fresca y a secar las muestras para extracción de aceite esencial de hierba seca. Se realizó el mismo procedimiento de secado a 30 – 35 °C por 48 hrs. La extracción del aceite esencial se efectuó de la misma forma que en tomillo, con la única diferencia de un tiempo de extracción de 45 a 50 minutos desde que condensa la primera gota.

Los compuestos analizados fueron los más comunes y abundantes del aceite esencial: cineol, canfor, borneol y alfa y beta pineno. El análisis fue realizado por el Laboratorio de Química Analítica de la Universidad Técnica Federico Santa María, y el Método empleado fue Cromatografía de Gases con Detector de Ionización de Llama.

Objetivo 5. Comparar los principales componentes químicos de materia fresca, materia seca, extracto seco y aceite esencial de romero.

Inicialmente se propuso comparar los componentes en estudio (antioxidantes y componentes del aceite esencial), de la materia fresca y seca, del extracto seco y del aceite esencial, obtenidos en una misma cosecha, en las cuatro estaciones.

Pero el proceso de elaboración del extracto seco requirió de numerosas evaluaciones del proceso para determinar cual era el más adecuado y que no estaban inicialmente contempladas. Esto significó redistribuir los análisis de antioxidantes y no realizar aquellos muestreos de los cuales ya teníamos antecedentes previos: antioxidantes en follaje fresco/seco en las cuatro temporadas y aceites esenciales; de estos sólo se mantuvo dos análisis de materia fresca (invierno y verano) y uno de aceite esencial de romero (invierno), para reforzar la interpretación de resultados.

Los análisis que finalmente se hicieron fueron:

1. extracto seco: contenidos de ácido rosmarínico, ácido carnósico y ácido ursólico,

Época: otoño (marzo) 2002 Análisis de verificación del proceso de obtención del residuo sólido

Época: invierno (julio) 2002 Análisis de verificación del proceso de obtención del extracto seco:

EL s/A.A. Análisis de EXTRACTO LÍQUIDO (EL) muestra líquida/ EL sin ácido ascórbico

EL c/A.A. Análisis de EXTRACTO LÍQUIDO (EL) muestra líquida/ EL con ácido ascórbico

E S 1º Análisis de EXTRACTO SECO muestra sólida de la 1º parte de la Extracción

E S 2º Análisis de EXTRACTO SECO muestra sólida de la 2º parte de la Extracción

Época: primavera (noviembre) 2002 Análisis de verificación del proceso de obtención del extracto seco

Época: verano (enero) 2003

2. materia fresca follaje: contenidos de ácido rosmarínico, ácido carnósico y ácido ursólico

Época: invierno (julio) 2002

Época: verano (enero) 2003

3. aceite esencial de romero: contenidos de Cineol , Canfor, α -pineno, β -pineno, Borneol

Época: invierno (julio)

Otros análisis realizados fueron:

Análisis de Muestra comercial Guardián (base romero)

Análisis de extracto en propilenglicol

El propilenglicol es utilizado en la formulación de productos farmacéuticos para niños y en productos cosméticos, pero no es aceptada en los procedimientos de producción y elaboración de productos orgánicos.

Metodología para el estudio de Antioxidantes:

Se recolectaron ramillas terminales de plantas en estado vegetativo y con algunos brotes en floración. La toma de muestras para los análisis fue al azar de una población de 360 plantas,

excluyendo las orillas. Para la obtención de materia prima seca se utilizó el secador artificial (30-35°C por 48 horas).

La muestra para el extracto seco, en estado fresco y seco, se entregó al Laboratorio Ximena Polanco para el desarrollo del extracto líquido y la realización del Spray Dry. La obtención del extracto se realizó el primero con un equipo de laboratorio y los siguientes en un equipo a escala semi-piloto (prestación de servicios). El proceso de fabricación del extracto necesitó condiciones ambientales controladas, con una mínima exposición a la luz y al solvente etanol.

Todo el proceso de obtención del extracto fue desarrollado por el Laboratorio Ximena Polanco. Una vez obtenido el extracto se trasladó al Laboratorio de Química Analítica (UTFSM) para el análisis de antioxidantes. El envasado del extracto seco para futuras evaluaciones se realizó en frascos de vidrio, aislados de la luz y a T ° 5-10 ° C. Las muestras para análisis se trasladaron en envases de plástico. El extracto seco de verano se empleó para los ensayos y evaluaciones posteriores.

La muestra fresca (follaje) empleada para el análisis de antioxidantes se cosechó por la tarde y se llevó de inmediato al Laboratorio de Química Analítica (UTFSM), donde fue analizada desde la 1° hora el día siguiente.

El método analítico empleado en los antioxidantes fue:

Ácido rosmarínico: Cromatografía Líquida con detector Ultravioleta (HPLC-UV)

Ácido carnósico: Cromatografía Líquida con detector Ultravioleta (HPLC-UV)

Ácido ursólico: Método Gravimétrico.

Metodología para el estudio de Aceites Esenciales: ver objetivo 4

La obtención del aceite esencial, por medio de destilación simple con arrastre de vapor se efectuó como en el objetivo anterior y los compuestos definidos para el análisis de composición fueron: Cineol, Canfor , Borneol, Alfa y beta Pineno.

Objetivo 6. Evaluar el uso de romero como antioxidante bajo seis formas de aplicación en conservación de productos hortícolas de cuarta gamma (minimamente procesados)

Lugar de realización: Laboratorio de Poscosecha e Industrialización de la Facultad de Agronomía de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

Se eligió palta y chirimoya como sustratos para evaluar el uso de extractos antioxidantes de romero sobre la enzima polifenoloxidasas responsable del deterioro de estos productos al industrializarlos.

Para determinar el efecto de las distintas dosis de extracto seco de romero como antioxidante natural en pulpa y rodajas de chirimoya y palta, se obtuvo la materia prima de la Estación Experimental "La Palma". Los frutos cosechados se almacenaron en el laboratorio a temperatura ambiente, hasta que alcanzaron la presión adecuada para ser procesadas según cada forma de presentación.

Los ensayos en chirimoya se realizaron con la variedad Concha Lisa

Ensayo 1: Elaboración de pulpa de chirimoya

T 1: Solución al 0.15% de ácido cítrico + 0.15% de ácido ascórbico por kilogramo de fruta.

T 2: Solución al 0.1% de extracto seco de romero por kilogramo de fruta.

T 3: Solución al 0.2% de extracto seco de romero por kilogramo de fruta.

T 4: Solución al 0.4% de extracto seco de romero por kilogramo de fruta.

Solución incorporada a la fruta (10 ml)

Ensayo 2: Elaboración de rodajas de chirimoya

T 1: Solución al 1% de ácido cítrico + 0.6% de ácido ascórbico.

T 2: Solución al 1% de extracto seco de romero

T 3: Solución al 1.5% de extracto seco de romero

T 4: Solución al 2% de extracto seco de romero

Inmersión en la solución por 10-15 minutos.

Los ensayos en palta se realizaron con la variedad Hass

Ensayo 1: Elaboración de pulpa de palta:

T 1: Solución al 0.1% de ácido cítrico + 0.1% de ácido ascórbico por kilogramo de fruta.

T 2: Solución al 3% de extracto seco de romero por kilogramo de fruta.

T 3: Solución al 5% de extracto seco de romero por kilogramo de fruta.

T 4: Solución al 1.5% de extracto seco de romero por kilogramo de fruta.

Incorporación de la solución a la pulpa (50 ml).

Ensayo 2: Elaboración de mitades de palta

T 1: Solución al 0.5% de ácido cítrico + 0.5% de ácido ascórbico

T 2: Solución al 1% de extracto seco de romero

T 3: Solución al 1.5% de extracto seco de romero

T 4: Solución al 2% de extracto seco de romero

Inmersión durante 10-15 minutos

Los Análisis físicos y químicos de la materia prima:

Análisis para chirimoya: resistencia de la pulpa a la presión, sólidos solubles, color de la pulpa, acidez titulable.

Análisis para palta: resistencia de la pulpa a la presión, contenido de aceite, color de la pulpa.

Industrialización de la materia prima:

La fruta presentó madurez de consumo, se lavó (agua clorada 10 ppm), se enjuagó con agua potable y se peló con un cuchillo de acero inoxidable. La fruta pelada se depositó inmediatamente en un recipiente con solución antioxidante. En el caso de las pulpas de chirimoya y palta se les agregó la solución antioxidante de acuerdo al tratamiento a medida que se realizó la molienda. El trozado de las rodajas de chirimoya y mitades de palta se realizó en inmersión.

Envasado y almacenaje: las pulpas se colocaron en bolsas de polietileno (300 gr) y se sellaron. En la pulpa de chirimoya el sellado fue con vacío (85%). Las rodajas de chirimoya y las mitades de palta se depositaron en bandejas plásticas envueltas con polietileno (300 gr de fruta c/u). Las pulpas y rodajas de chirimoya se almacenaron en una cámara de congelación a 0° C y las pulpas y mitades de palta se colocaron en una cámara refrigerada a 6° C.

Mediciones:

Pulpas y rodajas de chirimoya: tres mediciones cada siete días, se evaluó el color a los 0, 15 y 30 minutos de extraído el producto de la cámara.

Pulpas y mitades de palta: tres mediciones cada tres días, se evaluó el color a los 0, 15 y 30 minutos de extraído el producto de la cámara.

Objetivo 7. Evaluar el comportamiento del cultivo de romero en condiciones de clima Mediterráneo. Cultivo de romero en El Guindal.

El establecimiento se realizó en el mes de diciembre 2000 con plantas de 6 meses, multiplicadas previamente en la Facultad de Agronomía. La distancia entre plantas fue de 40 cm sobre la hilera y 70 entre hileras, con sistema de riego por surco.

Los ejemplares fueron observados en su crecimiento y desarrollo (junio, septiembre y octubre). Se efectuó una cosecha con rebaje al momento de iniciar la floración de primavera - verano. Como referencia a la resistencia al frío se dispuso de información de los huertos frutales adyacentes. Los manejos realizados fueron poda de formación, riegos y desmalezados.

Análisis de aceites esenciales:

Se obtuvieron muestras de 10 ejemplares de romero en febrero de 2002, estado de follaje y de plena flor, para extracción del aceite esencial y análisis de su composición química. Las muestras fueron trasladadas a la Facultad de Agronomía en Quillota para ser secadas, en secadero con sombra y temperatura ambiental. Luego se procedió a la destilación y traslado del aceite esencial para análisis de composición (Laboratorio de Química Analítica, UTFSM).

Objetivo 8. Elaborar un Estudio de Mercado de Usos de antisépticos y antioxidantes naturales y sus proyecciones futuras

El estudio de mercado fue realizado por los especialistas, Srta. María Elena Alvear y Don Sebastián Salgado. Se entregaron los informes respectivos.

Extensión Objetivo 1. Obtener un extracto seco de romero en invierno con adición de maltodextrina previo al Spray Dry

1.1. Metodología de obtención de extracto seco con maltodextrina (diciembre 2003)

Desarrollado por el Laboratorio Ximena Polanco

1 Cosecha de follaje de romero

2 Secado del material vegetal (% de humedad final entre 8 y 10%)

3 Acondicionamiento del material:

3.1 Limpieza y selección de la droga vegetal

3.2 Fractura de la droga seca

4 Extracción con solvente (etanol/ agua)

5 Clarificación del extracto

6 Concentración del extracto

7 Proceso de secado- Spray Dry. Al extracto concentrado se añadió un porcentaje de maltodextrinas (material inerte), con el objetivo de aumentar los sólidos totales y tener mayor eficiencia en el proceso de secado.

1.2 Metodología de Análisis Microbiológico, según Boletín de Análisis entregado por La Dra. Teras Ramelli, del Laboratorio Condecap:

El Laboratorio procedió a realizar el análisis microbiológico de la materia prima envasada a granel, 2 frascos de 42 gr c/u, desde el 31-03-2004 al 7-04-2004. El producto fue descrito en sus características físicas. Los análisis solicitados por el Laboratorio Ximena Polanco fueron:

Análisis Solicitados

Rto. Total de gérmenes aerobios mesófilos

Investigación de Escherichia coli

Investigación de Pseudomonas aeruginosa

Investigación de Staphylococcus aureus

Recuento de Hongos y Levaduras

Investigación de Salmonella

Las Cepas de Referencia Patrón fueron: E. coli ATCC : 8739; Ps. Aeruginosa ATCC : 23389; St. aureus ATCC : 6538; C. albicans ATCC : 10231; a. niger ATCC : 16404; Salmonella tiphy ATCC 8394.

1.3 Estudio de estabilidad de la fórmula

Desarrollado por el Laboratorio Ximena Polanco.

Se hizo un seguimiento de la composición química de los extractos durante 15 meses, con evaluaciones periódicas.

Se evaluó la calidad del extracto punto de vista de sus propiedades físicas-organolépticas (color, olor, sabor), facilidad de manejo

El estudio de estabilidad requiere de un período de 24 meses y la extensión del proyecto permitió evaluar hasta los 15 meses.

El producto se almacenó a temperatura ambiental (20°C), en envases plásticos, herméticos, en oscuridad, y libre de humedad.

El producto fue aplicado en formulaciones farmacéuticas (cremas, lociones, cápsulas, otros) y en alimentos funcionales (mermeladas, chocolates, etc.)

Extensión Objetivo 2. Caracterizar el extracto seco de romero de verano e invierno-primavera en relación a la cuantificación química de compuestos antioxidantes y el estudio de la Dosis Letal 50

2.1 Metodología de obtención de extracto seco de romero: corresponde a la misma metodología descrita anteriormente, excluyendo la adición de maltodextrina

2.2 Metodología de Análisis de antioxidantes

Análisis desarrollados por el Laboratorio de Química Analítica de la Universidad Federico Santa María.

Los métodos analíticos empleados son.

Cromatografía Líquida (HPLC) con detector UV: ácido carnósico

Cromatografía Líquida (HPLC) con detector UV: ácido rosmarínico

Gravimetría: ácido ursólico (sólo detección)

2.3 Metodología de Estudio de la dosis letal 50 (extracto con maltodextrina)

Dependiendo de los resultados de la Dosis Letal 50 se formula el nuevo producto.

Metodología desarrollada para el Estudio de Dosis Letal, según EL INFORME DE TOXICIDAD ORAL AGUDA EXTRACTO DE ROMERO PROYECTO C00-1-A-071 EXTENSIÓN, UCV-FIA, del Dr. Jaime Rodríguez.

El estudio se realizó con ratones machos CF-1 adultos (18-21 g), comprados en el Instituto de Salud Pública de Chile. Los animales fueron separados en 7 grupos de 8 individuos cada uno y dejados en ayuno por 24 horas. Luego del ayuno, los animales recibieron en forma oral, por intubación gástrica, 1 mL/100 g de las siguientes suspensiones del extracto en estudio en 12 % Tween 80:

GRUPO	1. Dosis Extracto (g/kg)
1	5
2	2,5
3	1,25
4	0,6125
5	0,3
6 Control	vehículo

El grupo N° 6 recibió 1 mL/100 g de la solución en que fue suspendido el extracto (12 % Tween 80).

Los animales fueron observados cada 15 min durante la primera hora, luego cada media hora durante las dos horas siguientes, luego a las 6, 8 y 12 horas post-tratamiento y luego un vez por día durante 14 días. Durante los 14 días post-tratamiento los animales tuvieron acceso a alimentación y agua, y fueron mantenidos en un bioterio a 22 °C y con ciclos de luz/oscuridad de 12/12 h.

Extensión Objetivo 3. Evaluar el uso de un extracto seco de romero de invierno y verano sobre aceite de emú, manteca vegetal y aceite de rosa mosqueta

Para cumplir con este objetivo se subcontrató a la unidad de aceites de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de Chile, la metodología por ellos realizada contempló

3.1 Recopilación de información bibliográfica con el objetivo de profundizar la investigación.

- 3.2 Aplicación del método de Folin-Clocalteu al extracto de romero, para medir fenoles totales.
- 3.3 Aplicación del método Rancimat en una batería de bases grasas, adicionadas de distintas concentraciones del extracto de romero Chileno, comercial y antioxidantes sintéticos.
- 3.4 Aplicación del método de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) al extracto de romero orgánico.
- 3.5 Realización de un estudio de estabilidad oxidativa en el tiempo a 60°C
- 3.6 Caracterización química de las materias grasas estudiadas, mediante los índices de acidez, peróxidos, color, etc.
- 3.7 Perfil de ácidos grasos de las materias grasas bases mediante cromatografía de gases.
- 3.8 Caracterización del contenido de tocoferoles naturales de las materias grasas estudiadas.

4. Descripción de las actividades y tareas ejecutadas para la consecución de los objetivos, comparación con las programadas y razones que explican las discrepancias.

Objetivo 1 Multiplicación de *Thymus vulgaris*: Aumentar la población del clon seleccionado

Actividad N°	Descripción	Fecha Inicio	Fecha Término	Fecha Inicio	Fecha Término
		PROGRAMADA		EJECUTADA	
1.1	División de plantas en tomillo	Nov 00	Nov 00	Nov 00	Nov 00
1.2.1	Propagación vegetativa de tomillo por medio de esquejes	Nov 00	Dic 00	Nov 00	Dic 00
1.2.2	Plantación propagación de tomillo 1.2.1	Abr 01	May 01	May 01	May 01
1.2.3	Propagación vegetativa de tomillo por medio de esquejes	Mar 01	Abr 01	Abr 01	May 01
1.2.4	Plantación propagación de tomillo 1.2.3	Sep 01	Dic 01	No porque la propagación de otoño- invierno presentó problemas sanitarios	
1.2.5	Propagación vegetativa de tomillo por medio de esquejes	Oct 01	Nov 01	Oct 01	Nov 01

Objetivo 2 Determinar la composición química y porcentaje de aceites esenciales en tomillo bajo tres épocas de cosecha (verano, invierno y primavera) y dos estados fenológicos (follaje y plena floración).

Actividad N°	Descripción	Fecha Inicio	Fecha Término	Fecha Inicio	Fecha Término
		PROGRAMADA		EJECUTADA	
2.1	Cosecha de m.f en tomillo en follaje y floración	Ene 02	Feb 02	Ene 02	Feb02
2.2	Obtención de aceite esencial de los dos estados cosechados en tomillo	Mar 02	Mar 02	Feb 02	Mar 02
2.3	Análisis químico de aceite esencial de tomillo	Abr 02	Abr 02	Abr 02	Abr 03
2.4	Cosecha de materia fresca en tomillo,	Oct 02	Dic 02	Nov 02	Dic 02

	follaje y plena flor				
2.5	Obtención de aceite esencial de follaje y plena flor de tomillo	Nov 02	Dic 02	Nov 02	Ene 03
2.6	Análisis químico de aceite esencial de tomillo	Ene 03	Ene 03	Ene 03	Ene 03
2.7	Muestreo de tomillo para aceites esenciales de invierno y análisis químico	Jul 02	Jul 02	Jul 02	Sep 02
2.8	Muestreo de tomillo para contramuestra	-		Ago 02	Ago 02

Objetivo 3 Evaluar el uso de tomillo como antiséptico bajo dos combinaciones de aplicación en poscosecha de frutas y hortalizas y conservación de productos de cuarta gamma (productos mínimamente procesados)

Actividad N°	Descripción	Fecha Inicio	Fecha Término	Fecha Inicio	Fecha Término
		PROGRAMADA		EJECUTADA	
3.1	Uso de aceite esencial de tomillo en postcosecha	Abr02	May 02	Oct 02	Oct 02
3.2	Uso de aceite esencial de tomillo en conservación de productos mínimamente procesados	Nov 02	abr 03	Nov 02	abr 03

Objetivo 4 Caracterizar los principales componentes químicos de la materia fresca, materia seca en romero durante el año y de aceites esenciales de acuerdo a su floración

Actividad N°	Descripción	Fecha Inicio	Fecha Término	Fecha Inicio	Fecha Término
		PROGRAMADA		EJECUTADA	
4.1.1	Extracción de materia fresca en romero	Dic 01	Dic 01	Ene 02	Ene 02
4.1.2	Obtención de materia seca a partir de materia fresca de romero	Ene 02	Feb 02	Ene 02	Ene 02
4.1.3	Análisis químico de materia fresca y	Mar 01	Mar 01/ Mar	Ene 02	Ene 02

	seca de romero	02 Mar 02		Se desplazó porque aún no se tenía completo el método de análisis
4.1.4	Extracción de materia fresca en romero	Abr 01	Abr 01	Abr 01 May 01
4.1.5	Obtención de materia seca a partir de materia fresca de romero	Abr 01	May 01	Abr 01 May 01
4.1.6	Análisis químico de materia fresca y seca de romero	Jun 01	Jun 01	May 01 May 01
4.1.7	Extracción de materia fresca en romero	Jul 01	Jul 01	Jul 01 Jul 01
4.1.8	Obtención de materia seca a partir de materia fresca de romero	Jul 01	Ago 01	Jul 01 Jul 01
4.1.9	Análisis químico de materia fresca y materia seca de romero	Sep 01	Sep 01	Sep 01 Sep 01
4.1.10	Extracción de materia fresca en romero	Oct 01	Oct 01	Oct 01 Oct 01
4.1.11	Obtención de materia seca a partir de materia fresca de romero	Oct 01	Nov 01	Oct 01 Nov 01
4.1.13	Muestreo follaje para ácido ursólico	May 02	jun 02	May 02 jun 02
4.2.1	Extracción de m. s en botón cerrado, plena flor y posfloración en romero	Oct 01	Dic 01	Ene 02 Feb 02
4.2.2	Obtención de aceite esencial a partir de materia fresca y materia seca de romero	Oct 01	Dic 01	Feb 02 Mar 02
4.2.3	Análisis químico de aceite esencial de romero	Ene 02	Ene 02	Abr 02 Abr 02
4.2.4	Extracción de materia fresca en follaje, inicios y plena flor en romero	Abr 02	Jun 02	Jun 02 Jun 02
4.2.5	Obtención de aceite esencial a partir de materia fresca y seca de romero	Abr 02	Jun 02	Jun 02 Jun 02
4.2.6	Análisis químico de aceite esencial de romero	Jun 02	Jul 02	Jul 02 Jul 02
4.2.7	Extracción de materia fresca en follaje, inicios y plena flor en romero	Dic 02	Ene 03	Dic 02 Ene 03
4.2.8	Obtención de aceite esencial a partir de	Dic 02	Ene 03	Dic 02 Ene 03

	materia fresca y seca de romero				
4.2.9	Análisis químico de aceite esencial de romero	Ene 03	Ene 03	May 03	May 03

Objetivo 5 Comparar los principales componentes químicos de materia fresca, materia seca, extracto seco y aceite esencial de romero

Actividad N°	Descripción	Fecha	Fecha	Fecha	Fecha
		Inicio	Término	Inicio	Término
		PROGRAMADA		EJECUTADA	
5.1	Obtención de materia fresca en romero	Mar 02	Mar 02	No se realizó por reordenamiento de muestreos	
5.2	Obtención de materia seca, extracto seco y aceite esencial de romero (sólo extracto seco y líquido para residuo sólido)	Abr02	May 02	Abr02	May 02
5.3	Análisis químico de materia seca, extracto seco y aceite esencial en romero (sólo extracto seco y líquido para residuo sólido)	Jun 02	Jun 02	May 02	jun 02
5.4	Obtención de materia fresca en romero	Jun 02	Jun 02	Jul 02	Jul 02
5.5	Obtención de materia seca, extracto seco y aceite esencial en romero	Jul02	Ago 02	Jul 02	Jul 02
5.6	Análisis químico materia seca, extracto seco y aceite esencial en romero	Sep 02	Sep 02	Jul 02	Ago 02
5.7	Obtención de materia fresca de romero	Sep 02	Dic 02	Nov02	Dic 02
5.8	Obtención de materia seca, extracto seco y aceite esencial de romero	Oct 02	Ene 03	Nov 02	Ene 03
5.9	Análisis químico de materia seca, extracto seco y aceite esencial de romero	Dic 02	Dic 02	Dic 02	Dic 02

5.10	Obtención de materia fresca de romero	Ene 03	Ene 03	Ene 03	Ene 03
5.11	Obtención de materia seca, extracto seco, aceite esencial de romero	Feb 03	Mar 03	Ene 03	Ene 03
5.12	Análisis químico de materia seca, extracto seco y aceite esencial de romero	Abr 03	Abr 03	Ene 03	Ene 03

Objetivo 6 Evaluar el uso de romero como antioxidante bajo seis combinaciones de aplicación en conservación de productos hortícolas de cuarta gamma (mínimamente procesados)

Actividad N°	Descripción	Fecha Inicio	Fecha Término	Fecha Inicio	Fecha Término
		PROGRAMADA		EJECUTADA	
6.1	Uso de materia seca y extracto seco de romero en poscosecha de frutas y hortalizas	Sep 02	Abr 03	Nov 02	Abr 03
6.2	Uso de materia seca y extracto seco de romero en conservación de productos mínimamente procesados	Nov 02	Abr 03	Nov 02	Mar 03
6.3	Uso de aceite esencial de romero en poscosecha de frutas y hortalizas	Feb 03	mar 03	No se realizó porque el aceite esencial de tomillo tiene más referencias científicas en control de patógenos en poscosecha	
6.4	Uso de aceite esencial de romero en conservación de productos mínimamente procesados	Abr 03	May 03		

Objetivo 7 Evaluar el comportamiento del cultivo de romero en condiciones de clima mediterráneo.

Actividad N°	Descripción	Fecha Inicio	Fecha Término	Fecha Inicio	Fecha Término
		PROGRAMADA		EJECUTADA	
7.1	Acondicionamiento parcela	Nov 00	Nov 00	Nov 00	Nov 00

	experimental El Guindal				
7.2	Establecimiento cultivo de romero en El Guindal	Dic 00	Dic 00	Nov 01	Nov 01
7.3	Muestro de follaje de romero (verano)	No estaba programada		Feb 02	Feb 02

Objetivo 8 Elaborar un Estudio de Mercado de Usos de antisépticos y antioxidantes naturales y sus proyecciones futuras.

Actividad N°	Descripción	Fecha Inicio	Fecha Término	Fecha Inicio	Fecha Término
		PROGRAMADA		EJECUTADA	
8.1	Estudio de Mercado	Mar 01	Jun 01	May 01	Ago 01

Extensión objetivo 1 Obtener un extracto seco de romero en invierno con a adición de maltodextrina previo a Spray Dry

Actividad N°	Descripción	Fecha Inicio	Fecha Término	Fecha Inicio	Fecha Término
		PROGRAMADA		EJECUTADA	
1.1	Obtención de materia fresca de romero	Ago 03	Ago 03	Ago03	nov03
1.2	Obtención de materia seca a partir de materia fresca de romero	Ago 03	Ago 03	Ago03	nov03
1.3	Obtención de extracto seco con maltodextrina	Ago 03	Sep 03	Dic03	Ene 04
1.4	Estandarización de extracto seco	Sep 03	Sep 03	Dic03	Ene04

Extensión objetivo 2 Caracterizar el extracto seco de romero de verano e invierno-primavera en relación a la cuantificación química de compuestos antioxidantes y el estudio de la dosis letal 50

Actividad N°	Descripción	Fecha Inicio	Fecha Término	Fecha Inicio	Fecha Término
		PROGRAMADA		EJECUTADA	
2.1	Análisis químico extracto seco de verano	Jun 03	Jun 03	Jul 03 Nov03 Jul 04 Mar 05	
2.2.1	Análisis micro organismos (1)	Sep 03	sep 03	Mar04	
2.2.2	Análisis micro oorganismos (2)	Sep 03	sep 03	-	
2.2.3	(0)Análisis químico antioxidantes	Sep 03	sep 03	El extracto se obtuvo en diciembre 03 y se desplazaron las fechas de los análisis siguientes	
2.2.4	Análisis físicos y organoléptico	Sep 03	sep 03	Dic03	
2.2.5	(1)Análisis químico antioxidantes	Nov 03	nov 03	Mar04	
2.2.6	Análisis físicos y organoléptico	Nov 03	nov 03	Mar04	
2.2.7	(2)Análisis químico antioxidantes	Feb 04	Feb 04	Jun04	
2.2.8	Análisis físicos y organoléptico	Feb 04	Feb 04	Jun04	
2.2.9	(3)Análisis químico antioxidantes	May 04	May 04	Sep04	
2.2.10	Análisis físicos y organoléptico	May 04	May 04	Sep04	
2.2.11	(4)Análisis químico antioxidantes	Ago 04	Ago 04	Dic 04	
2.2.12	Análisis físicos y organoléptico	Ago 04	Ago 04	Dic 04	
2.2.13	(5)Análisis químico antioxidantes	Nov 04	Mar 05	Mar 05	
2.2.14	Análisis físicos y organoléptico	Nov 04	Mar 05	Mar 05	

Extensión objetivo 3 Evaluar el uso de un extracto seco de romero de invierno y verano sobre aceites y grasas.

Actividad N°	Descripción	Fecha Inicio	Fecha Término	Fecha Inicio	Fecha Término
		PROGRAMADA		EJECUTADA	
3.1.1	Establecimiento ensayo sobre aceite	Jul 03	Ago 03	Sep03	mar04
3.1.2	Evaluaciones ensayo 3.1.1	Ago 03	Dic 03	Sep03	mar04
3.2.1	Establecimiento ensayo sobre grasas	Jul 03	Ago 03	Sep03	mar04
3.2.2	Evaluaciones ensayo 3.2.1	Ago 03	Dic 03	Sep03	mar04
3.3.1	Establecimiento ensayo sobre rosa mosqueta	Jul 03	Ago 03	Sep03	mar04
3.3.2	Evaluaciones ensayo 3.3.1	Ago 03	Dic 03	Sep03	mar04

Actividad de Difusión

Actividad N°	Descripción	Fecha Inicio	Fecha Término	Fecha Inicio	Fecha Término
		PROGRAMADA		EJECUTADA	
DIFUSIÓN 1º parte	Actividades de difusión con Empresas	Abr 03	May 03	Se postergó para el período de extensión del proyecto	
DIFUSIÓN 2º parte Extensión	Charlas técnicas A representantes de CANALAB, CORGHIGA	Mar 05		Mar 05	

5. Resultados del proyecto

Objetivo 1

Multiplicación de *Thymus vulgaris*: Aumentar la población del clon seleccionado

1. Resultados de los ensayos de propagación realizados en primavera-verano:

Cuadro 1. Porcentaje de Enraizamiento por Tratamiento

TRATAMIENTOS	ENRAIZAMIENTO PROMEDIO (%)	
ESTACAS HERBÁCEAS ; 000 ppm. IBA	92,33	A
ESTACAS HERBÁCEAS ; 400 ppm. IBA	92,67	A
ESTACAS HERBÁCEAS ; 800 ppm. IBA	93,95	A
ESTACAS SEMILEÑOSAS; 000 ppm. IBA	87,08	A
ESTACAS SEMILEÑOSAS; 800 ppm. IBA	87,61	A
ESTACAS SEMILEÑOSAS; 1000 ppm. IBA	86,54	A

Cuadro 2 : Longitud Promedio de Raíces cms por Tratamiento

TRATAMIENTOS	LONGITUD PROMEDIO (cm.)	
ESTACAS HERBÁCEAS ; 000 ppm. IBA	8,75	A
ESTACAS HERBÁCEAS ; 400 ppm. IBA	12,58	B
ESTACAS HERBÁCEAS ; 800 ppm. IBA	10,43	B
ESTACAS SEMILEÑOSAS; 000 ppm. IBA	7,57	A
ESTACAS SEMILEÑOSAS; 800 ppm. IBA	7,62	A
ESTACAS SEMILEÑOSAS; 1000 ppm. IBA	11,67	B

Análisis Estadístico de Resultados de Enraizamiento y de Longitud de raíces:

Para el análisis estadístico de los resultados del ensayo de aplicación de IBA en solución hidroalcohólica de 0, 400, 800 y 1.000 ppm en estacas semileñosas y herbáceas de tomillo se utilizó un Modelo Completo al Azar, considerando un error del 5% para las variables longitud de raíces en cm y porcentaje de enraizamiento .

En el Cuadro 1, se observa que el porcentaje de enraizamiento para ambos tipos de estacas es sobre el 85%, independiente del tratamiento.

Del Cuadro 2, se desprende que el regulador de crecimiento IBA (ácido indol burtírico) favorece el desarrollo de raíces adventicias, obteniendo los mejores resultados con concentraciones de 400 y 800 ppm para estacas herbáceas y 1.000 ppm para estacas semileñosas. Por lo tanto, el uso de IBA permitiría la obtención de una estaca enraizada con mejor capacidad de sobrevivencia al trasplante. Los resultados de esta propagación de primavera-verano serán comparados con los de otoño.

2. Resultados de los ensayos de propagación realizados en otoño - invierno:

Cuadro 3. Porcentaje de Enraizamiento por Tratamiento

TRATAMIENTOS	ENRAIZAMIENTO PROMEDIO (%)	
ESTACAS HERBÁCEAS ; 000 ppm. IBA	78.27	A
ESTACAS HERBÁCEAS ; 400 ppm. IBA	74.23	A
ESTACAS HERBÁCEAS ; 800 ppm. IBA	66.17	A
ESTACAS SEMILEÑOSAS; 000 ppm. IBA	70.45	A
ESTACAS SEMILEÑOSAS; 800 ppm. IBA	67.20	A
ESTACAS SEMILEÑOSAS; 1000 ppm. IBA	60.60	A

Cuadro 4: Longitud Promedio de Raíces cms por Tratamiento

TRATAMIENTOS	LONGITUD PROMEDIO (cm.)	
ESTACAS HERBÁCEAS ; 000 ppm. IBA	6.82	AB
ESTACAS HERBÁCEAS ; 400 ppm. IBA	7.72	B
ESTACAS HERBÁCEAS ; 800 ppm. IBA	6.32	A
ESTACAS SEMILEÑOSAS; 000 ppm. IBA	6.15	A
ESTACAS SEMILEÑOSAS; 800 ppm. IBA	9.15	C
ESTACAS SEMILEÑOSAS; 1000 ppm. IBA	7.80	B

Análisis Estadístico de Resultados de Enraizamiento y de Longitud de raíces:

Para el análisis estadístico de los resultados del ensayo de aplicación de IBA en solución hidroalcohólica de 0, 400, 800 y 1.000 ppm en estacas semileñosas y herbáceas de tomillo se utilizó un Modelo Completo al Azar, considerando un error del 5% para las variables longitud de raíces en cm y porcentaje de enraizamiento.

En el Cuadro 2, se observa que el porcentaje de enraizamiento es similar para ambos tipos de estacas, independiente de la concentración de regulador de crecimiento utilizado.

En el Cuadro 3, se desprende que el regulador de crecimiento IBA (ácido indol butírico) favorece el desarrollo de raíces adventicias, obteniendo los mejores resultados con concentraciones de 800 ppm para estacas semileñosas. En relación a los resultados obtenidos de la propagación de primavera-verano anterior, la rizogénesis fue inferior lo que se puede deber a las bajas temperaturas que retardan los procesos metabólicos y/o la actividad de los reguladores de crecimiento.

Gran parte de las plantas de la segunda propagación (otoño – invierno) de tomillo se perdieron en el transplante a maceta por problemas fungosos (diagnóstico visual) y otras presentaron poco desarrollo. Dado que las propagaciones de primavera y verano son superiores, se optó por llevar a terreno solamente las plantas obtenidas en la multiplicación masal que se hizo para cubrir el resto de las parcelas de tomillo. Esto superó con creces la cantidad de plantas del objetivo inicial.

3. Resultados del enraizamiento masal: 89,79 %. Se obtuvo sobre 2300 esquejes enraizados, suficientes para cubrir las 9 parcelas restantes con alta densidad de plantas: 225 plantas por parcela de 20m² con un total aproximado de 2200 plantas

Objetivo 2

Determinar la composición química y porcentaje de aceites esenciales en tomillo bajo tres épocas de cosecha (verano, invierno y primavera) y dos estados fenológicos (follaje y plena floración).

1. Resultados primera época de cosecha (verano) y dos estados fenológicos (follaje y plena floración)

Cuadro 5: Contenidos de timol y carvacrol en el aceite esencial de verano: fines febrero a principios de marzo

Muestra Aceite esencial	Estado fenológico	G/100gr de muestra en base recibida	
		timol	carvacrol
Hierba fresca/seca	Estado fenológico	timol	carvacrol
Nº1 Hierba seca	Follaje R 1	23,4	0,9
Nº2 Hierba seca	Follaje R 2	22,6	1,2
Nº3 Hierba seca	Follaje R 3	23,4	0,9
Nº4 Hierba seca	Floración R 1	23,4	1,4

Nº5 Hierba seca	Floración R 2	24,4	1,6
Nº6 Hierba seca	Floración R 3	24,2	1,3

aceite esencial: 1,35 %

humedad: 14 %

2. Resultados segunda época de cosecha (invierno) y dos estados fenológicos (follaje y plena floración)

Cuadro 6 : Contenidos de timol y carvacrol en el aceite esencial de invierno: julio

Muestra Aceite esencial	Estado fenológico	G/100gr de muestra en base recibida	
		timol	carvacrol
Nº1 Hierba seca	Follaje R 1	2,9	0,1
Nº2 Hierba seca	Follaje R 2	2,7	0,2
Nº3 Hierba seca	Follaje R 3	2,5	0,1
Nº4 Hierba seca	Floración R 1	2,9	0,15
Nº5 Hierba seca	Floración R 2	2,6	0,2
Nº6 Hierba seca	Floración R 3	2,4	0,25

aceite esencial: 1,18 %

humedad: 23 %

3. Resultados tercera época de cosecha (primavera) y dos estados fenológicos (follaje y plena floración).

Cuadro 7 : Contenidos de timol y carvacrol en el aceite esencial de primavera.

Muestra Aceite esencial	Estado fenológico	G/100gr de muestra en base recibida	
		Timol	carvacrol
Nº1 Hierba seca	Follaje R 1	15,6	0,65
Nº2 Hierba seca	Follaje R 2	20	0,8
Nº3 Hierba seca	Follaje R 3	19	0,9
Nº4 Hierba seca	Floración R 1	17	0,8
Nº5 Hierba seca	Floración R 2	21,7	1
Nº6 Hierba seca	Floración R 3	20	1

aceite esencial: 1,25 %

humedad: 14 %

El aceite esencial de tomillo obtenido en verano (febrero) e invierno (julio) dieron considerables diferencias en los tenores de timol, pasando de 24 % a 2,7 % respectivamente. El carvacrol se encuentra en cantidad inferior al 1,5% de la esencia. El porcentaje de aceite esencial se mantiene similar.

En ambas épocas el compuesto predominante fue un tipo de terpineol aumentando fuertemente su tenor en la medición de julio. El compuesto predominante en el aceite esencial para la época de primavera también fue un tipo de terpineol.

El período de cosecha invernal se caracterizó por bajas temperaturas y precipitaciones. Esto sumado a la mayor lignificación de las plantas cosechadas y la diferencias de humedad de la materia prima de invierno (23 %) respecto a verano y primavera (14 %), puede haber influido en los contenidos de timol.

El aceite esencial de primavera presentó contenidos de timol y carvacrol más cercanos a las muestras de verano de la pasada temporada (23-24%) y muy superiores a los resultados de invierno (2,5-2,9%).

Esto verifica que efectivamente hubo un efecto de la época, las condiciones climáticas y el estado fisiológico de las plantas. El período de cosecha invernal caracterizado por las bajas temperaturas y precipitaciones y la mayor lignificación de las plantas cosechadas son condiciones adversas para la obtención del timol.

Otro aspecto que influye en el contenido de timol de la esencia es el equipo de extracción y los tiempos de destilación. En este caso se emplearon los mismos tiempos de destilación para material con distinto % de humedad, 14 % (verano y primavera) y 23 % (invierno) y dado las características físico químicas del timol (cristal, alto peso específico) puede afectar los contenidos de timol extraíble. Determinar cuanto afecta, requiere de evaluaciones comparativas no contempladas originalmente en los análisis químicos.

Se realizó una extracción con éter dietílico (Cuadro 8) para verificar los contenidos de timol y carvacrol por otro método.

Cuadro 8: Contenidos de timol y carvacrol en el aceite esencial obtenido en agosto mediante éter dietílico

Muestra				G/100gr de muestra en base recibida	
Aceite esencial					
Hierba fresca/seca	Estado fenológico	Ac.esencial %	% hd	timol	Carvacrol
Nº1 Hierba fresca	Follaje	2,1	65,6	17,4	1,3
Nº2 Hierba seca	Follaje	3,1	13,8	9,3	1,7

El análisis demostró la presencia de ambos compuestos en nivel intermedio a los resultados obtenidos para verano e invierno con destilación por arrastre de vapor. Se puede inferir que un efecto de la época invernal fría y húmeda, ya que los niveles extraídos de timol siguen siendo inferiores a los de verano.

De acuerdo a los contenidos de timol (de verano) y el alto tenor del compuesto tipo terpineol que aparece en el aceite esencial, el clon seleccionado no es del quimiotipo timol, aún así, la presencia de timol sobre el 20 % le da propiedades antisépticas.

Por las características del compuesto tipo terpineol, liviano y que sale en la primera parte de la destilación, es factible aumentar el nivel de timol en el aceite esencial fraccionando la extracción, pero esto eleva el costo del producto.

Objetivo 3:

Evaluar el uso de tomillo como antiséptico bajo dos combinaciones de aplicación en poscosecha de frutas y hortalizas y conservación de productos de cuarta gamma (productos mínimamente procesados)

Los resultados de los ensayos en espárragos y en radicchios indicaron en términos generales, que el efecto de la aplicación de aceite esencial en solución es comparable a la utilización de tratamientos basados en hipoclorito de sodio.

Aceite esencial de Tomillo en Poscosecha de Espárragos (ver Tesis)

En este estudio se probó el aceite esencial comparándolo con el uso de agua destilada y cloro comercial, a través de cinco tratamientos: T0 (Agua destilada), T1 (Hipoclorito de sodio a

concentración comercial), T2 (Aceite esencial de tomillo a 140 ppm), T3 (Aceite esencial de tomillo a 240 ppm), T4 (Aceite esencial de tomillo a 420 ppm).

Los turiones se almacenaron en cámaras de frío y se hicieron tres evaluaciones, a los 0, 14 y 28 días. Se midieron las variables peso, largo, pH, acidez titulable, sólidos solubles, relación sólidos solubles / acidez, abertura de brácteas, cicatrización y presencia de enfermedades.

Se concluyó que para muchas variables, el uso de aceite esencial de tomillo tenía iguales o mejores resultados que el cloro convencional. Para el caso de abertura de brácteas, presencia de enfermedades y cicatrización tuvieron efecto la interacción entre tratamientos y tiempo de almacenaje.

El peso y los sólidos solubles solo se ven afectados por el tiempo de almacenaje. La longitud no se ve alterada por ninguno de los tratamientos ni el periodo de almacenaje. El pH y la acidez titulable se mantienen constantes hasta la segunda fecha y aumentan los ácidos hacia la tercera fecha. En relación a la relación sólidos solubles / acidez cualquier tratamiento es mejor que el agua destilada los demás son iguales entre sí.

Aceite esencial de Tomillo en Poscosecha de Radicchios (ver Tesis)

Con el propósito de comparar la efectividad antibacterial a *Erwinia carotovora*, en relación al método químico tradicional (Cloro), se aplicaron previo al almacenaje refrigerado, 3 concentraciones (100, 200 y 300 ppm) de aceite esencial de tomillo, sobre radicchios variedad Coralo R3, para así obtener una alternativa orgánica o integrada, al control de esta enfermedad en almacenaje. La aplicación de cloro fue de 200 ppm y se almacenaron durante 10, 20 y 30 días a una temperatura de 0°C+/-1°C y 95 % de humedad relativa.

El aceite esencial de tomillo se comporta de igual forma que el cloro, por lo que se puede concluir que, bajo estas condiciones de almacenaje (0°C+/-1°C y 95% de H.R), y hasta por un período de 30 días, daría lo mismo aplicar cloro o aceite esencial de tomillo, a radicchios variedad Coralo R3 para prevenir o retardar la incidencia de *Erwinia carotovora* en almacenaje refrigerado, generando así una alternativa prominente de control orgánico o integrado sobre esta enfermedad. Tampoco presentó efectos sobre la variable cualitativa evaluada (aroma) y no provocó manchas de fitotoxicidad a ninguna de las concentraciones usadas (100, 200 y 300 ppm)

Objetivo 4:

Caracterizar los principales componentes químicos de la materia fresca, materia seca en romero durante el año y de aceites esenciales de acuerdo a su floración

1. Antioxidantes:

Caracterizar los principales componentes químicos antioxidantes de la materia fresca y seca de romero durante el año

Resultados de muestras analizadas de materia fresca y materia seca de romero, cosechas de otoño, invierno, primavera y verano (2001-2002)

Resultados para los antioxidantes ácido rosmarínico y ácido carnósico por medio de Cromatografía líquida con detector ultravioleta (HPLC-UV) Para el ácido ursólico se empleó el método Gravimétrico ya que no tiene propiedades espectroscópicas en UV-Vis.

Los valores obtenidos se llevaron a peso seco para hacer comparables los resultados de cada estación. El estudio no estaba diseñado para análisis estadísticos con repeticiones, y estos resultados nos dan una tendencia del comportamiento de los compuestos investigados.

Cuadro 9 :Variación Estacional de Antioxidantes de *Rosmarinus officinalis*

Estado muestra	antioxidantes	G/100 gr de muestra en base recibida	Valor corregido en base a estandar de cada compuesto	Valor en base seca gr/100gr
Otoño 2001				
Romero fresco 3 MAYO 2001	a. rosmarínico	0,31	0,30 %	0,791
	a. carnósico	0,43*	0,75 %**	1,978
	a. ursólico	-	-	-
	humedad	62,1 %	62,1 %	-
Romero seco 3 MAYO 2001	a. rosmarínico	0,47	0,46 %	0,528
	a. carnósico	1,59*	3,73 %**	4,282
	a. ursólico	-	-	-

	humedad	12,9 %	12,9 %	-
Invierno 2001				
Romero fresco 26 JULIO 2001	a. rosmarínico	0,70	0,58 %	1,288
	a. carnósico	0,47*	1,47 % **	3,266
	a. ursólico	3,7	-	8,222
	humedad	55 %	55 %	-
Romero seco 31 JULIO 2001	a. rosmarínico	0,66	0,54 %	0,594
	a. carnósico	1,64*	3,38%**	3,718
	a. ursólico	5,3	-	5,830
	humedad	9,1 %	9,1 %	-
Primavera 2001				
Romero fresco 6 NOVBRE 02	a. rosmarínico	0,44	0,36 %	1,014
	a. carnósico	0,51*	1,84 %**	5,183
	a. ursólico	4,80	-	13,52
	humedad	64,5 %	64,5%	-
Romero seco 6 NOVBRE 02	a. rosmarínico	0,55	0,45 %	0,490
	a. carnósico	1,17*	4,41%**	4,803
	a. ursólico	5,9	-	6,427
	humedad	8,2 %	8,2%	-
Verano 2002				
Romero fresco 27 ENERO 02	a. rosmarínico	-	0,36%	0,807
	a. carnósico	-	2,12%	4,753
	a. ursólico	-	1,64%	3,677
	humedad	-	55,4%	-
Romero seco 27 ENERO 02	a. rosmarínico	-	0,53%	0,572
	a. carnósico	-	5,21%	5,632
	a. ursólico	-	3,64%	3,935
	humedad	-	7,5%	-
* frente a BHA				
** frente a ácido carnósico				

El análisis del ácido ursólico de otoño se completó en otoño del 2002, ya que en la primera medición no se tenía definido aún el método de análisis

Cuadro 10 : Contenidos de antioxidantes en follaje de romero de otoño

Estado muestra	Antioxidantes	G/100 gr de muestra en base recibida	G/100 gr de muestra en base seca
Romero fresco otoño 2002	a. rosmarínico	0,24	0,533
	a. carnósico	2,0	4,444
	a. ursólico	2,3	5,111
	Humedad	55,0	-
Romero seco otoño 2002	a. rosmarínico	0,6	0,662
	a. carnósico	2,9	3,200
	a. ursólico	10,1	11,147
	Humedad	9,4	-

Los tres compuestos están definidos como importantes compuestos antioxidantes y están presentes en el romero, tanto en estado de hierba fresca como en estado de hierba seca.

Sin embargo, como lo menciona CUVÉLIER, M. E., RICHARD, H., y BERSET, C. (1998), la exposición de los compuestos a condiciones ambientales (luz, temperatura) los hace sensibles a oxidaciones y derivaciones a otros compuestos, por ejemplo de ácido carnósico a carnosol, de ácido rosmarínico a rosmanol.

Esto implica que la hierba seca debe tener un proceso rápido y cuidadoso de secado para evitar mayores pérdidas de compuestos. Según los resultados de los análisis la tendencia del ácido rosmarínico es pérdida de parte del compuesto al secarse y esta puede ser considerable. Se observa que, junto con el ácido ursólico, son más sensibles que el ácido carnósico al proceso de secado.

Sin embargo compuestos como el carnosol también aparecen destacados por sus propiedades antioxidantes (DUKE, J. 2000), (SORIANO, M.C. et al 1998), luego se esperaría que no significara pérdidas considerables en su actividad antioxidante.

Cuadro 11 : Resumen de contenidos de antioxidantes en las cuatro estaciones

	Otoño	Invierno	Primavera	Verano
Ácido rosmarínico	0,53%	0,59%	0,49%	0,57%
Ácido carnósico	4,28%	3,72%	4,80%	5,63%
Ácido ursólico	11,15%	5,83%	6,43%	3,94%

Respecto a las estaciones del año la tendencia al aumento de compuestos antioxidantes hacia primavera y verano se observa sólo claramente en el ácido carnósico. En términos porcentuales el ácido rosmarínico se mantiene en un rango estable (0,49 a 1,3 %), el ácido carnósico aumenta hacia primavera y verano (5,6 %) y su mínimo rendimiento es en invierno (2,0 %). El ácido ursólico tiene un comportamiento irregular, con un mínimo en verano (3,7 %) y alzas en primavera (6,43%) y otoño (11-13%)

En el período invernal se observa una menor producción de ácido carnósico pero mantiene los niveles de ácido rosmarínico. El menor nivel de ácido carnósico no afectaría en gran medida las propiedades antioxidantes al transformarse en carnosol, ambos destacados por su capacidad antioxidante. Para esta selección los resultados dan una idea de la época de cosecha para favorecer los contenidos de alguno de estos compuestos.

Los contenidos de estos compuestos dentro de las plantas están dentro de los rangos esperados de 0,35 % de ácido rosmarínico y 2,8 a 4,1 % de ácido ursólico (DUKE, J, 2000), sin embargo en la referencia bibliográfica no se especifica el estado fenológico de la planta (Ver anexo nº 1)

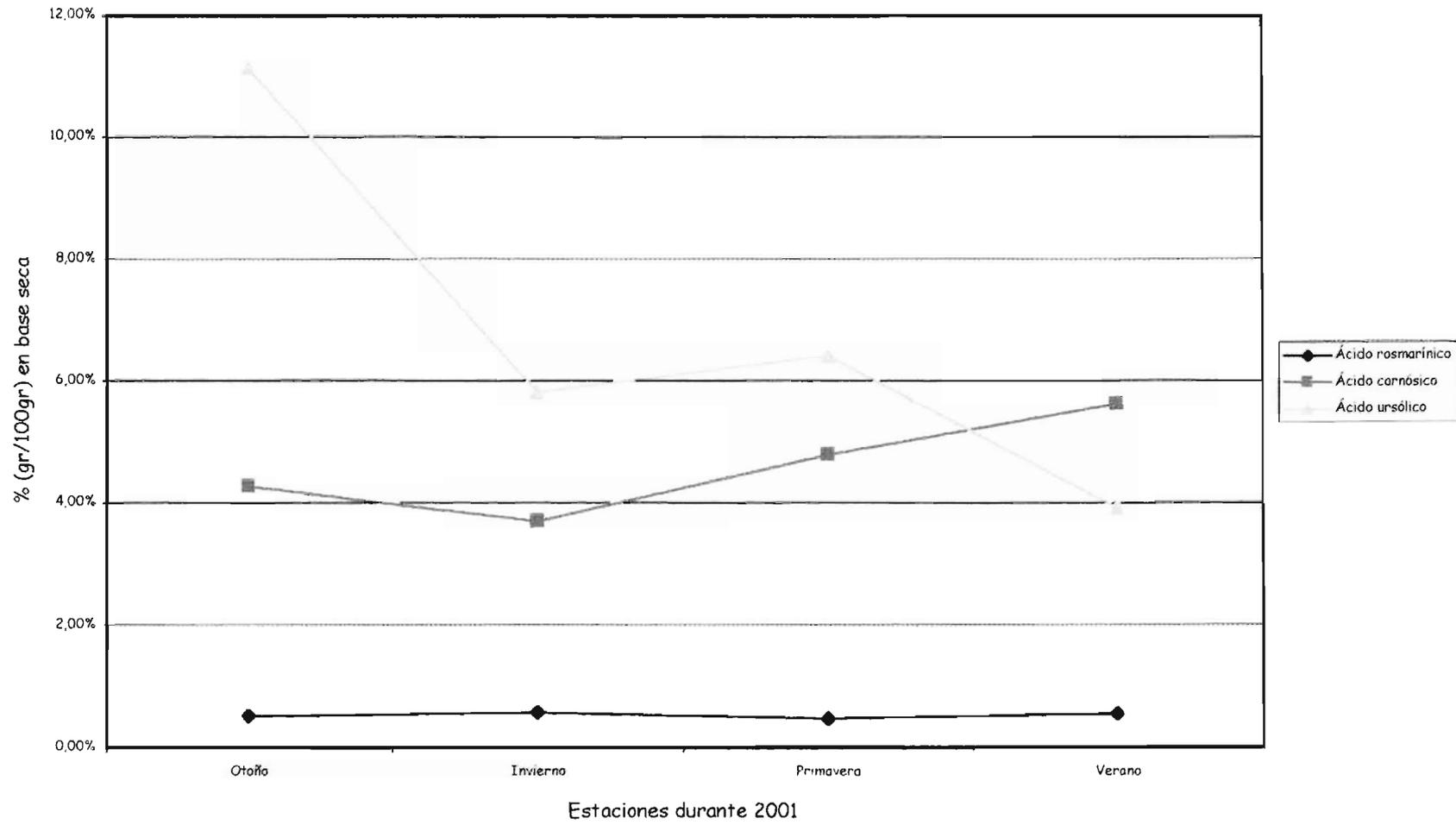
Con relación al estudio realizado por SORIANO, M. C., GABALDON, M. J. y CORREAL, E (1998), sobre la "Influencia del estado fenológico de recolección de *Rosmarinus officinalis L.* en el contenido de polifenoles con capacidad antioxidante", la investigación se hizo en dos variedades de romero los cuales presentaron diferencias en los contenidos de antioxidantes (ácido carnósico, carnosol y ácido rosmarínico) atribuidas al genotipo de estas plantas (ver anexo nº 1).

La selección de romero investigada (selección "Limache") en este proyecto tuvo más alto contenidos de ácido carnósico en primavera y verano siendo similar al comportamiento de uno de los genotipos españoles, aún cuando el rendimiento de la selección "Limache" fue superior a la citada en dicha investigación.

Para la selección "Limache" el ácido rosmarínico, que aparece más o menos constante durante el año, tiene su máxima presencia en invierno, con una diferencia radical en cantidad y época en relación los genotipos españoles estudiados, los cuales presentan rendimientos superiores a fines del verano.

A diferencia de lo que menciona el estudio español, que pasada la temporada de verano hacia otoño habría una disminución de estos compuestos y no se presenta el invierno, para nuestras condiciones climáticas, como el período de menor producción de antioxidantes. Probablemente se deba también a un comportamiento del genotipo seleccionado.

Figura 1. Variación de compuestos antioxidantes en materia seca de romero (selección Limache)



2. Aceites esenciales: Caracterizar los principales componentes químicos de los aceites esenciales de la materia fresca y seca de romero durante el año

1º floración de verano:

Resultados primera época de cosecha (Verano) y tres estados fenológicos (follaje, inicio de flor y plena floración).

Cuadro 12 : Contenidos de los principales compuestos del aceite esencial de romero de verano:

Muestra ac. Esencial		G/100gr de muestra en base recibida				
Hierba fresca/seca	Estado fenológico	Alfa pineno	Beta pineno	cineol	canfor	borneol
Nº1 fresca	Follaje	8,4	7,0	24,8	22,1	3,6
Nº2 fresca	Inicios floración	7,9	7,1	26,6	23,9	3,7
Nº3 fresca	Plena floración	7,8	6,7	25,0	24,2	3,4
Nº4 seca	Follaje	9,6	7,4	22,8	21,9	3,9
Nº5 seca	Inicios floración	8,7	7,2	24,8	20,8	3,4
Nº6 seca	Plena floración	8,3	6,4	26,0	21,8	3,5

2º floración de otoño

Resultados segunda época de cosecha (otoño) y tres estados fenológicos (follaje, inicio de flor y plena floración).

Cuadro 13 : Contenidos de los principales compuestos del aceite esencial de romero de otoño

Muestra ac. Esencial		G/100gr de muestra en base recibida				
Hierba fresca/seca	Estado fenológico	Alfa pineno	Beta pineno	cineol	canfor	borneol
Nº1 fresca	Follaje	7,6	7,6	24,7	26,0	4,8
Nº2 fresca	Inicios floración	7,4	7,5	25,1	26,0	4,4
Nº3 fresca	Plena floración	7,5	7,6	25,2	24,2	4,5
Nº4 seca	Follaje	9,2	8,2	22,9	23,3	4,0
Nº5 seca	Inicios floración	9,1	8,6	24,5	22,2	3,9
Nº6 seca	Plena floración	8,4	8,1	24,0	22,5	4,3

De acuerdo a los análisis de verano y otoño se observa que los aceites esenciales de verano y de otoño mantienen una proporción estable en todos los componentes analizados (cineol, canfor, alfa pineno, beta pineno y borneol). El contenido de aceite esencial fluctuó de 2,7 a 3,4 % sobre hierba seca.

Los principales componentes son cineol y canfor (sobre un 45%). Los compuestos alfa y beta pineno suman el 16 % del aceite esencial y el borneol se mantiene cerca del 4%. Se destaca que el canfor (21 a 26 %) se conoce por sus propiedades antisépticas, nematocidas y funguicidas (DUKE, 2000)

3° floración de primavera

Resultados tercera época de cosecha (primavera) y tres estados fenológicos (follaje, inicio de flor y plena floración).

Cuadro 14: Contenidos de los principales compuestos del aceite esencial de romero de primavera

Muestra Esencial	ac.	Estado fenológico	G/100gr de muestra en base recibida				
			Alfa pineno	Beta pineno	cineol	Canfor	borneol
Hierba fresca/seca							
N°1 fresca		Follaje	3,1	3,9	29,6	31,6	3,3
N°2 fresca		Inicios floración	11,7	9	26,1	14,9	1,6
N°3 fresca		Plena floración	11,5	9	26	14,6	1,7
N°4 seca		Follaje	11,8	9,9	26,9	15,2	1,2
N°5 seca		Inicios floración	11,2	10,1	26,4	14,1	1,5
N°6 seca		Plena floración	11,7	10	26,7	14,1	1,4

Los resultados obtenidos en estos análisis aunque mantienen la proporción entre sus componentes (cineol, canfor, alfa pineno, beta pineno y borneol), difieren en ciertos porcentajes en relación a los obtenidos en verano y otoño.

El contenido de aceite esencial fluctuó de 2,9 a 3,5 % sobre hierba seca.

Los principales componentes siguen siendo cineol y canfor (sobre un 40%). Los compuestos alfa y beta pineno son ligeramente superiores a las anteriores mediciones (de 16 % pasan a 20 o más %, a excepción de la muestra nº1) y el borneol disminuye considerablemente (de 4% disminuye hasta 1,2 %, a excepción de la muestra nº1)

Los muestreos no se hicieron con repeticiones, luego no se hizo análisis estadístico para ver las diferencias experimentales (por costos de análisis) y no se puede concluir sobre cuales presentan diferencias reales ni explicar la diferencia de la muestra nº1.

Un factor diferente que pudo afectar los resultados es el cambio en el equipo de extracción, ya que en las primeras mediciones se empleó un equipo de vidrio de columna y en la última se destiló en un equipo de vidrio de balón, el cual requiere de 20 o 30 minutos más de proceso para que el vapor impregne toda la hierba.

Este tipo de diferencias indican que los diferentes equipos deben ser evaluados en su capacidad de extracción de compuestos para obtener el máximo rendimiento, tanto del aceite esencial como de sus componentes.

Resultados comparativos muestra seca normal y muestra seca con pardeamiento

Se realizó un análisis específico (Cuadro 15), de una muestra de romero seco con leve pardeamiento y de una muestra sin daños en el secado, dando como resultado una composición similar para los compuestos identificados. El cambio de aroma detectado se puede atribuir a otros compuestos formados en el pardeamiento y no detectados

Cuadro 15 : Contenidos de los principales compuestos del aceite esencial de romero de verano en hierba seca normal vs hierba seca con pardeamiento

Muestra Ac. Esencial		G/100gr de muestra en base recibida				
hierba estado	Estado fenológico	Alfa pineno	Beta pineno	cineol	canfor	borneol
Seco	Follaje	9,6	7,4	22,8	21,9	3,9
Seco con leve pardeamiento	Follaje	9,7	7,4	24,0	21,9	3,8

Objetivo 5

Comparar los principales componentes químicos de materia fresca, materia seca, extracto seco y aceite esencial de romero

Cuadro 16 : Orden de la información obtenida para la revisión de resultados.

Producto	1. extracto seco	2. materia fresca follaje	3. aceite esencial de romero
Época	marzo (otoño) 2002	-	-
	julio (invierno) 2002	julio (invierno) 2002	julio (invierno)
	noviembre (primavera) 2002	-	-
	enero (verano) 2003	enero (verano) 2003	-
Compuestos	Ácido rosmarínico ácido carnósico ácido ursólico,	Ácido rosmarínico ácido carnósico ácido ursólico	Cíneol , Canfor α -pineno, β -pineno Borneol

Otros análisis incorporados en este objetivo corresponden a:

Análisis químico del producto comercial GUARDIAN

Análisis químico de extracto de romero en propilenglycol

En ambos casos se emplearon los mismos métodos analíticos desarrollados para analizar los antioxidantes ac. Rosmarínico, ac. Carnósico y ac. Ursólico) del follaje y extracto seco de romero.

1. Resultados del Extracto seco

Se realizaron varias pruebas para verificar el proceso óptimo de obtención de extracto seco, estas consistieron en:

- Análisis de verificación del proceso de obtención del residuo sólido (otoño)
- Análisis de verificación del proceso de obtención del extracto seco (invierno):

Análisis de EXTRACTO LÍQUIDO (EL) muestra líquida/ EL sin ácido ascórbico

Análisis de EXTRACTO LÍQUIDO (EL) muestra líquida/ EL con ácido ascórbico

Análisis de EXTRACTO SECO muestra sólida de la 1º parte de la Extracción

Análisis de EXTRACTO SECO muestra sólida de la 2º parte de la Extracción

Estas pruebas fueron realizadas por el Laboratorio Ximena Polanco y los análisis químicos por el Laboratorio de Química Analítica de la Universidad Técnica Federico Santa María.

El equipo Spray Dry empleado para esta etapa de obtención del extracto seco corresponde a un equipo de laboratorio, lo que implicó un proceso de más de 24 horas, por lo cual se obtuvieron y analizaron dos fracciones de la extracción (1º y 2º parte)

Desarrollo de los Resultados:

1.1 Extracto seco de OTOÑO: Análisis de verificación del proceso de obtención del residuo sólido

El extracto seco se obtuvo de follaje con algo de floración en estado fresco

Cuadro 17: Contenidos de antioxidantes de muestras de extracción del residuo sólido de romero de otoño (marzo 2002)

Muestras del proceso de extracción de residuo sólido	Gr / 100 gr de muestra en base recibida		
	Ácido carnósico	Ácido rosmarínico	Ácido ursólico
Nº1 Líquida	0,055	0,045	2,4
Nº2 Sólida	2,6	< 0,6	0,5

Este resultado indica la presencia de los tres compuestos en la fase líquida y la fase sólida. El proceso de extracción obtuvo un residuo sólido de 4,5 %.

1.2 Extracto seco de INVIERNO: Análisis de verificación del proceso de obtención del extracto seco

1.2.1 Análisis de EXTRACTO LÍQUIDO (EL) muestra líquida

1.2.1.1. EL sin ácido ascórbico

Cuadro 18 : Contenidos de antioxidantes en Extracto Líquido sin ácido ascórbico, de romero de invierno (julio 2002)

Tiempo (días)	Resultado en base recibida (mg/ml)		
	Ácido carnósico*	Ácido rosmarínico	Ácido ursólico
0	No se detecta	2,1 (mg/ml)	No se detecta
5	No se realiza	2,3 (mg/ml)	No se realiza
10	No se realiza	2,3 (mg/ml)	No se realiza

*Desde el primer análisis el área del ácido carnósico se obtuvo un área muy pequeña por lo que no se cuantificó. El estandar disponible entrega un área muy grande por lo que no son compatibles

Este análisis se efectuó para ver la presencia de antioxidantes en el extracto líquido previo a la obtención del extracto seco. No se ~~be~~ precisó la causa de la no detección de ácido carnósico ni del ácido ursólico. El ácido rosmarínico se detecta y permanece estable durante el período de mediciones.

1.2.1.2. EL con ácido ascórbico

Cuadro 19 : Contenidos de antioxidantes en Extracto Líquido con ácido ascórbico, de romero de invierno (julio 2002)

Tiempo (días)	Resultado en base recibida (mg/ml)		
	Ácido carnósico*	Ácido rosmarínico	Ácido ursólico
0	No se detecta	2,0 (mg/ml)	No se detecta
5	No se realiza	2,2 (mg/ml)	No se realiza
10	No se realiza	1,7 (mg/ml)	No se realiza

*Desde el primer análisis el área del ácido carnósico se obtuvo un área muy pequeña por lo que no se cuantificó. El estandar disponible entrega un área muy grande por lo que no son compatibles

En este análisis ocurre algo similar al anterior, sin embargo el ácido rosmarínico aparentemente es menos estable en el tiempo en presencia de ácido ascórbico.

1.2.2. Análisis de EXTRACTO SÓLIDO o EXTRACTO SECO muestra sólida

1.2.2.1. Análisis de EXTRACTO SECO muestra sólida obtenida de 1º parte de la Extracción

Cuadro 20 : Contenidos de antioxidantes en Extracto Seco de romero de invierno 1º fracción (julio 2002)

Tiempo (días)	Resultado en base recibida (gr/100 gr)		
	Ácido carnósico*	Ácido rosmarínico	Ácido ursólico
0	No se detecta	4,1 (gr/100 gr)	8,8 (gr/100 gr)
7	No se realiza	4,5 (gr/100 gr)	No se realiza
14	No se realiza	4,4 (gr/100 gr)	No se realiza
28	No se realiza	4,6 (gr/100 gr)	8,4 (gr/100 gr)

*Desde el primer análisis el área del ácido carnósico se obtuvo un área muy pequeña por lo que no se cuantificó. El estandar disponible entrega un área muy grande por lo que no son compatibles

1.2.2.2. Análisis de EXTRACTO SECO muestra sólida obtenida de 2º parte de la Extracción

Cuadro 21: Contenidos de antioxidantes en Extracto Seco de romero de invierno 2º fracción (julio 2002)

Tiempo (semanas)	Resultado en base recibida (gr/100 gr)		
	Ácido carnósico*	Ácido rosmarínico	Ácido ursólico
12	4,3	4,2	39,7
18	< 2,5	2,5	13,2

De acuerdo a estos resultados la primera fracción del extracto seco contiene ácido rosmarínico (4,1 a 4,6 %) y ácido ursólico (8,4 a 8,8%) manteniéndose estable en el tiempo evaluado (28 días) El ácido carnósico no es detectado a nivel comparable al patrón químico.

La segunda fracción de extracto seco presenta, a las 12 semanas, los tres antioxidantes. Se mantiene el tenor de ácido rosmarínico (4,3%) y el ácido ursólico alcanza niveles muy altos (39,7 %). El ácido carnósico se detecta a un nivel similar al ácido rosmarínico (4,3%)

A las 18 semanas la segunda fracción presenta, una importante disminución en los tres antioxidantes. Puede haber influido en esta disminución, que las muestras para analizar se sacaron del mismo recipiente, exponiéndolo a la luz, aire y temperatura ambiental por unos breves momentos. Aún así se consideró para futuras evaluaciones de estabilidad en almacenaje.

1.3 Extracto seco de PRIMAVERA: Análisis de verificación del proceso de obtención del extracto seco

El extracto seco se obtuvo de follaje con algo de floración en estado fresco (primavera)

Este extracto también forma parte del análisis de verificación del proceso de obtención del extracto seco. El equipo Spray Dry empleado (semi piloto) tiene una mayor capacidad (volumen de secado). El proceso de extracción obtuvo un residuo sólido de 4% en el extracto de noviembre .

Cuadro 22: Contenidos de antioxidantes en Extracto Seco de romero de primavera (noviembre 2002)

Tiempo (semanas)	Resultado en base recibida (gr/100 gr)		
	Ácido carnósico*	Ácido rosmarínico	Ácido ursólico
0	No se detecta	2,5 %	18,4 %

El extracto obtenido en esta extracción se observó con un ligero pardeamiento, el cual apareció en el proceso de concentración de la solución en etanol, previo al Spray Dry.

En esta segunda extracción se trabajó con volúmenes mayores de material vegetal, para poder realizar el proceso de Spray Dry en un equipo semi piloto y así bajar los costos de obtención del extracto seco.

Sin embargo, al emplear la hierba fresca, el proceso de concentración de la solución en etanol requiere de mayor tiempo, exponiendo los compuestos durante un período más largo al alcohol, a la luz y temperatura (no superan los 40 °C).

Es conocido el efecto de estas condiciones especialmente en la pérdida del ácido carnósico y el carnosol. Esto explicaría que no se detecte el ácido carnósico, la reducción del ácido rosmarínico en relación a análisis anteriores, y probablemente el ligero pardeamiento.

Estos resultados llevaron a considerar la extracción sobre la hierba en estado seco y el mayor control de las condiciones ambientales en el proceso de obtención de extracto seco de verano.

1.4 Extracto seco de VERANO:

El extracto seco se obtuvo de follaje con algo de floración en estado fresco y seco (verano)

El proceso de extracción obtuvo un residuo sólido de 6 % en el extracto de verano.

Cuadro 23 : Contenidos de antioxidantes en Extracto Seco de romero de verano (enero 2003)

Origen de extracto seco	Resultado en base recibida (gr/100 gr)		
	Ácido carnósico	Ácido rosmarínico	Ácido ursólico
Hierba fresca	8,1	4,0	32,5
Hierba seca	9,0	4,2	43,3

Los contenidos son muy superiores a los obtenidos en extractos anteriores, lo que indica que el control de las condiciones de extracción (reducción a la exposición de la luz y del tiempo de concentración) favorece la mantención de los antioxidantes estudiados. También se verifica que la hierba seca proporciona un extracto con mayores contenidos de estos antioxidantes.

Se puede afirmar con estos resultados que el mejor extracto seco se obtuvo en verano, con materia prima seca y en condiciones controladas de mínima exposición a la luz y de tiempo de concentración en etanol.

A diferencia de los análisis efectuados en follaje fresco y seco de romero (Objetivo 4) el análisis cuantitativo del ácido ursólico en el extracto seco (polvo) presenta dificultades en su determinación por el método gravimétrico, dando valores excesivos.

Después de reiterados muestreos y análisis que dieron resultados de 43 a 75 % de ácido ursólico, se concluyó que no son válidos. Dado que se detecta la presencia del ácido ursólico, se presenta como un resultado cualitativo (Ver Anexo 2).

2. Resultados de la Materia fresca (follaje):

Este análisis de compuestos antioxidantes se hizo sobre una muestra de follaje obtenida del mismo material que se procesó para la obtención de extracto seco en invierno y en verano (puntos 1.2 y 1.4).

De este modo se verificó la presencia de los compuestos antioxidantes en la materia prima (follaje), y se utilizó como referencia en los análisis de verificación del proceso de obtención del extracto seco.

Desarrollo de los Resultados:

2.1 Materia fresca (follaje) de INVIERNO: Análisis de antioxidantes (a. Carnósico, a. Rosmarínico, a. Ursólico)

Cuadro 24 : Contenidos de antioxidantes en follaje de romero de invierno (julio 2002)

Estado muestra	Antioxidantes	G/100 gr de muestra en base recibida	G/100 gr de muestra en base seca
Muestra follaje fresco	a. rosmarínico	0,24	0,648
	a. carnósico	1,9	5,135
	a. ursólico	3,5	9,459
	Humedad	63 % humedad	-

El análisis de contenidos de esta muestra da resultados comparables a los obtenidos en el primer año de seguimiento estacional de los antioxidantes.

2.2 Materia fresca y seca (follaje) de VERANO: Análisis de antioxidantes (a. Carnósico, a. Rosmarínico, a. Ursólico)

Cuadro 25 : Contenidos de antioxidantes en follaje fresco y seco de romero de verano (enero 2003)

Estado muestra	Antioxidantes	G/100 gr de muestra en base recibida	G/100 gr de muestra en base seca
Muestra follaje fresco	a. rosmarínico	0,4	1,047
	a. carnósico	1,6	4,188
	a. ursólico	2,1	5,497
	Humedad	61,8 %	-
Muestra follaje seco	a. rosmarínico	0,4	0,468
	a. carnósico	4,4	5,152
	a. ursólico	4,7	5,503
	Humedad	14,6 %	-

El análisis de contenidos de esta muestra da resultados comparables a los obtenidos en el primer año de seguimiento estacional de los antioxidantes.

3. Resultados de Aceite esencial (de follaje fresco):

Similar al punto 2. el análisis de compuestos del aceite esencial se hizo sobre una muestra de follaje obtenida del mismo material que se procesó para la obtención de extracto seco en invierno (punto 1.2).

Los resultados de análisis químico de los principales componentes del aceite esencial también da una idea del comportamiento de la planta, al compararse con análisis previos del aceite esencial.

Desarrollo de los Resultados:

2.1 Aceite esencial (de follaje fresco) de INVIERNO: Análisis de los principales componentes (:Cíneol , Canfor, α -pineno, β -pineno y Borneol)

Cuadro 26: Contenidos de los principales compuestos del aceite esencial de romero de invierno (julio 2002)

Muestra Esencial	Ac.	G/100gr de muestra en base recibida				
		Alfa pineno	Beta pineno	cineol	canfor	Borneol
Hierba fresca	Estado fenológico					
Nº1 fresca	Follaje	10,6	8,9	23,7	21,9	3,6
Nº2 fresca	Follaje	9,5	8,3	22,8	23,4	4,6
Nº3 fresca	Follaje	10,7	9,1	23,8	21,5	3,4

La composición de estas muestras da resultados comparables a los obtenidos en los anteriores análisis de aceites esenciales de romero. Esto supone un comportamiento normal de la planta, similar a lo que ocurre con la presencia de los antioxidantes analizados en el follaje.

Por esta razón no se realizaron nuevas extracciones, de noviembre y enero, ya que son análogas a las extracciones del objetivo nº 4, para las estaciones verano, otoño y primavera.

4. Análisis de muestra comercial GUARDIAN

Cuadro 27 : Contenidos de los antioxidantes ácido carnósico, ácido rosmarínico, ácido ursólico, en muestra comercial a base de romero

Producto GUARDIAN	Resultado en base recibida (gr/100 gr)		
	Ácido carnósico*	Ácido rosmarínico	Ácido ursólico
Antioxidantes en propilenglicol	1,4	0,06	12,8

Este análisis se realizó para verificar la presencia de estos tres antioxidantes en un producto comercial.

5. Extracto en propilenglicol de VERANO

Simultáneo al extracto seco obtenido en verano (punto 1.4), en enero 2003, se realizó una extracción en propilenglicol, con el fin de evaluar otro tipo de extracto de romero que contenga los compuestos antioxidantes en estudio.

Cuadro 28 : Contenidos de antioxidantes en Extracto en propilenglicol de romero de verano (enero 2003)

Origen de extracto	Resultado en base recibida (gr/100 gr)		
	Ácido carnósico	Ácido rosmarínico	Ácido ursólico
seco			
Hierba fresca	0,5	0,05	3,0
Hierba seca	0,26	0,1	3,7

Los contenidos de antioxidantes son inferiores porque se trata de una dilución (una parte de material vegetal y cinco partes de propilenglicol). La ventaja que puede tener este procedimiento es el costo de obtención de los antioxidantes, pero esto depende también del efecto sobre los sustratos donde se aplica.

Objetivo 6

Evaluar el uso de romero como antioxidante bajo seis combinaciones de aplicación en conservación de productos hortícolas de cuarta gamma (mínimamente procesados)

Se eligió palta y chirimoya como sustratos para evaluar el uso de extractos antioxidantes de romero sobre la enzima polifenoloxidasas responsable del deterioro de estos productos al industrializarlos.

Los objetivos fueron "Determinar el efecto de distintas dosis de extracto seco de romero como antioxidante natural, y el efecto del tiempo de almacenaje y tiempo de exposición a temperatura ambiente sobre el pardeamiento de la pulpa y rodajas de chirimoya y palta"

Para los distintos tratamientos efectuados sobre chirimoya con incorporación de soluciones de extracto seco de romero a concentraciones de 0%, 0,1%, 0,2% y 0,4% en pulpa, e inmersión a concentraciones de 0%, 1 %, 1,5% y 2% de rodajas de chirimoya no se obtuvo efecto controlador del pardeamiento.

Lo mismo ocurre con la palta cuyos tratamientos se efectuaron en pulpa y en mitades, con dosis incorporadas a la pulpa de 0%, 1,5 %, 3 % y 5 % de extracto seco, e inmersión de mitades de palta a 0%, 1%, 1,5% y 2% de extracto seco de romero, no tuvieron efecto antipardeamiento.

Este resultado indica que los compuestos antioxidantes del extracto de romero aplicados bajo las condiciones del experimento, no actúan como agentes inhibidores de las reacciones enzimáticas que producen pardeamiento u oxidaciones en frutas frescas.

Las reacciones de oxidación enzimática son diferentes a las reacciones de oxidación de grasas. Existen numerosos estudios que verifican el efecto antioxidante del romero sobre grasas, pero para saber el comportamiento del extracto obtenido en esta investigación, se incluyó un estudio de estabilidad determinado por método Rancimat, cuyos resultados se presentan en el Anexo nº 3. El extracto presentó un buen comportamiento como antioxidante natural sobre aceite de Rosa Mosqueta. Estos resultados llevaron a la Extensión de la Investigación con el fin de ampliar los usos del extracto.

Objetivo 7

Evaluar el comportamiento del cultivo de romero en condiciones de clima mediterráneo.

En la parcela experimental de la Estación El Guindal, los ejemplares de romero presentaron buen comportamiento durante el otoño e invierno, con resistencia heladas de hasta -6 °C. En primavera tuvieron un crecimiento vigoroso. La mayoría de las plantas florecieron en primavera – verano, sin embargo algunos ejemplares mantuvieron ramas vegetativas y ramas en floración. Esto permitió obtener material para extraer aceite esencial de follaje con floración y sin floración para su análisis de composición.

Resultados de aceites esenciales: Cosecha Verano, follaje y plena flor

Cuadro 29 : Contenidos de los principales compuestos del aceite esencial de romero de verano obtenidos en La Palma, Quillota y El Guindal, Los Andes

Muestra Aceite esencial		Estado fenológico	G/100gr de muestra en base recibida				
			Alfa pineno	Beta pineno	cineol	canfor	borneol
Hierba fresca/seca							
Nº1 seca	Quillota	Follaje	9,6	7,4	22,8	21,9	3,9
Nº2 seca	El Guindal	Follaje	9,6	5,5	22,7	24,4	3,7
Nº3 seca	Quillota	Plena floración	8,3	6,4	26,0	21,8	3,5
Nº4 seca	El Guindal	Plena floración	9,1	5,7	19,7	23,8	3,7

El aceite esencial extraído de muestras de romero (follaje y floración) de la Estación Experimental El Guindal, durante el verano, presentaron menor cantidad de beta pineno y mayor cantidad de canfor, con relación a muestras provenientes de Quillota. La proporción entre compuestos es similar en ambas zonas.

Objetivo 8

Elaborar un Estudio de Mercado de Usos de antisépticos y antioxidantes naturales y sus proyecciones futuras.

Informes entregados.

Extensión Objetivo 1

Obtener un extracto seco de romero en invierno con a adición de maltodextrina previo a Spray Dry

Se obtuvo en diciembre 2003 el extracto seco con maltodextrina, de acuerdo al procedimiento descrito. Se procedió a realizar el análisis microbiológico de la materia prima, con fecha 31-03-2004 al 7-04-2004:

1.1 Resultados Análisis Microbiológico:

DESCRIPCION: Producto seco, en polvo, de color amarillo, sin partículas extrañas visibles, sin grumos, a granel.

(124)

<u>Análisis Solicitados</u>	<u>Especificaciones</u>	<u>Resultados</u>	<u>Cód. Met.</u>
Rto. Total de gérmenes aerobios mesófilos.....		< 10 ufc/g.	
Investigación de Escherichia coli		Negativo	
Investigación de Pseudomonas aeruginosa.....		Negativo	
Investigación de Staphylococcus aureus		Negativo	
Recuento de Hongos y Levaduras		< 10 ufc/g.	(3a3g)
Investigación de Salmonella		Negativo	(3sd) (C. 47/17)

Cepas de Referencia Patrón: E. coli ATCC : 8739; Ps. Aeruginosa ATCC : 23389; St. aureus ATCC : 6538; C. albicans ATCC : 10231; a. niger ATCC : 16404; Salmonella tiphy ATCC 8394.

Análisis microbiológico del extracto obtenido: Los resultados del análisis microbiológicos cumplen con las especificaciones de calidad. Estos resultados también demuestran que el proceso de fabricación del extracto es bueno porque no se tuvo ninguna contaminación durante el proceso.

Extensión Objetivo 2

Caracterizar el extracto seco de romero de verano e invierno-primavera en relación a la cuantificación química de compuestos antioxidantes y el estudio de la dosis letal 50

1.Extracto seco de romero de verano (enero 2003)

Corresponde a la continuación de los análisis del extracto obtenido en enero de 2003, y presentado en el Objetivo nº 5, punto 1.4 (cuadro 23). Este extracto fue el que reunió los mejores contenidos de los antioxidantes analizados.

Cuadro 30: Contenidos de antioxidantes en Extracto Seco de romero de verano de **hierba fresca** (enero 2003)

Tiempo (meses)	Resultado en base recibida (gr/100 gr)		
	Ácido carnósico	Ácido rosmarínico	Ácido ursólico
0	8,1	4,0	p
10	5,5**	3,8**	p
17	5,5	3,8	p

P: presente

** : muestra de frasco recién abierto (sin análisis previos)

Dadas las razones expuestas en el punto 1.4 del Objetivo nº 5, sobre la conveniencia de hacer los extractos secos a partir de materia prima seca (menor tiempo de concentración), se continuó evaluando el extracto proveniente de hierba seca.

Cuadro 31: Contenidos de antioxidantes en Extracto Seco de romero de verano de **hierba seca** (enero 2003)

Tiempo (meses)	Resultado en base recibida (gr/100 gr)		
	Ácido carnósico*	Ácido rosmarínico	Ácido ursólico
0	9,0	4,2	p
6	5,0	2,2	p
10	5,6*	3,9*	p
10	6,0**	3,7**	p
17	6,6	3,9	p
26	6,1	3,4	p

P : presente

* : muestra de frasco abierto previamente (con análisis previos)

** : muestra de frasco recién abierto (sin análisis previos)

De acuerdo a los resultados de análisis químicos los extractos obtenidos en verano de 2003, a los 6, 10, 17 y 26 meses la tendencia es mantener los altos niveles de los antioxidantes ácido carnósico y ácido rosmarínico, bajo condiciones de almacenaje en recipientes de vidrio herméticos, aislados de la luz y a 5°-10° C . El ácido ursólico aparece siempre presente.

Si se considera el transcurso del tiempo 0 hasta los 26 meses, la disminución de los contenidos de ácido carnósico, de 9% a 6,1% y el ácido rosmarínico, de 4,2 % a 3,4 %, corresponden a un 32,2 % y 19 % respectivamente.

La diferencia física que se percibe es que los extractos obtenidos a partir de follaje seco generan un extracto levemente más oscuro (tonos claros de verde-amarillo y verde-pardo) que los proveniente de hierba fresca, pero no se evidencia una relación entre la variación de su composición y el color.

A los 10 meses se hizo una distinción en las muestras analizadas, de modo que se sacaron muestras de frascos previamente muestreados y de frascos recién abiertos, lo cual tampoco evidenció mayores diferencias.

2. Extracto seco de romero de invierno-primavera (con maltodextrina)

Cuadro 32: Contenidos de antioxidantes en Extracto Seco de romero con maltodextrina (marzo 2004 - marzo 2005)

Tiempo (meses)	Resultado en base recibida (gr/100 gr)		
	Ácido carnósico*	Ácido rosmarínico	Ácido ursólico
3	3,8	2,1	p
6	2,6	1,8	p
12	1,0	0,5	p
15	2,4	1,8	p

P : presente

El extracto seco se obtuvo en diciembre 2004 a partir de hierba seca. Los valores obtenidos en este análisis nos permiten concluir que el proceso extractivo utilizado fue bueno ya que se pudo extraer cantidades significativas de las sustancias activas. Generalmente se pudo obtener el 80 % de las cantidades presentes en la droga vegetal.

Tanto el ácido carnósico como el ácido rosmarínico presentan una disminución de contenidos. Desde el mes 3 al mes 15, el ácido carnósico pasa de 3,8 a 2,4% (36% de pérdida) y el ácido rosmarínico de 2,1 a 1,8% (14,3% de pérdida), con una tendencia similar al resultado del extracto seco de verano, donde el ácido carnósico es afectado con una mayor pérdida en relación al ácido rosmarínico.

3. Estudio de la dosis letal 50 (extracto con maltodextrina)

De acuerdo al INFORME DE TOXICIDAD ORAL AGUDA EXTRACTO DE ROMERO PROYECTO C00-1-A-071 EXTENSIÓN, UCV-FIA, del Dr. Jaime Rodríguez. (Laboratorio de Cultivo Celular, Facultad Ciencias de la Salud de la Universidad de Talca), los resultados fueron:

En las 2 primeras horas siguientes a la administración oral del extracto, 3 animales del grupo 1 presentaron alteraciones locomotoras, caracterizadas por temblor generalizado y dificultad para desplazarse. En los dos días siguientes murieron 2 animales del grupo 1 y 1 animal del grupo 2.

Al final de los 14 días de observación, se obtuvo el siguiente recuento de animales muertos:

GRUPO	Nº de animales muertos
1	2
2	1
3	0
4	0
5	0
6 Control	0

Los pesos de los animales control y del grupo de dosis máxima ($2,4 \times 10^{10}$), al inicio y al final del experimento fueron los siguientes:

GRUPO	PESO INICIAL (g)	PESO FINAL (g)
1	$19,7 \pm 1,4$	$23,9 \pm 1,8$
7 Control	$19,5 \pm 1,5$	$24,2 \pm 1,6$

El cálculo de la DL_{50} utilizando el método de Litchfield y Wilcoxon dió un valor de 8,33 g/kg, lo que permite afirmar que el extracto de romero estudiado es un producto que no ofrece peligro.

Dosis Letal 50: Los resultados obtenidos de este estudio concluyen que el extracto fabricado es inocuo y que se puede seguir con la segunda fase del proceso, que es la formulación del producto a elaborar.

Extensión Objetivo 3

Evaluar el uso de un extracto seco de romero de invierno y verano sobre aceites y grasas.

Evaluación de la acidez libre de distintas materias grasas que posteriormente se someteran al extracto de romero (basada en % de ácido graso oléico).

Materia grasa	Acidez basado en % de ácido oleico	Desviación standard
Cerdo	0.4	0.01
Emú	0.08	0.007
Vacuno	0.4	0.01
Salmón	0.12	0.01
Aceite de Maqui	19.6	0.06
Aceite de Mosqueta	0.30	0.02

- Índice de Peróxidos (miliequivalentes de oxígeno activo/Kg de materia grasa) de estos

Materia Grasa	Índice de Peróxidos	Desviación Standard
Cerdo	3.94	0.04
Emú	3.62	0.2
Vacuno	2.73	0.4
Salmón	5.53	0.07
Aceite de Maqui	11.46	0.37
Aceite de Mosqueta	6.49	0.15

* el aceite de Maqui se descarta por tener índices de calidad muy grandes.

- Resultados Rancimat, tiempos de Inducción en horas, aplicando concentraciones de ambos extractos al 0.1%.

Materia grasa	Blanco	0.1% G	0.1% R UCV
Cerdo	0.76 ± 0.11	4.82 ± 0.22	11.73 ± 0.55
Emú	1.23 ± 0.084	6.33 ± 0.27	13.3 ± 0.15
Vacuno	1.58 ± 0.5	6.88 ± 0.29	20.1 ± 1.82
Salmón	< 0.5	< 0.5	< 0.5
Aceite de Mosqueta	2.92 ± 0.015	3.38 ± 0.09	3.53 ± 0.18

Donde:

G ; corresponde al antioxidante comercial guardián

R UCV corresponde al antioxidante orgánico chileno.

- Aplicando concentraciones del 0.2% de G y R UCV:

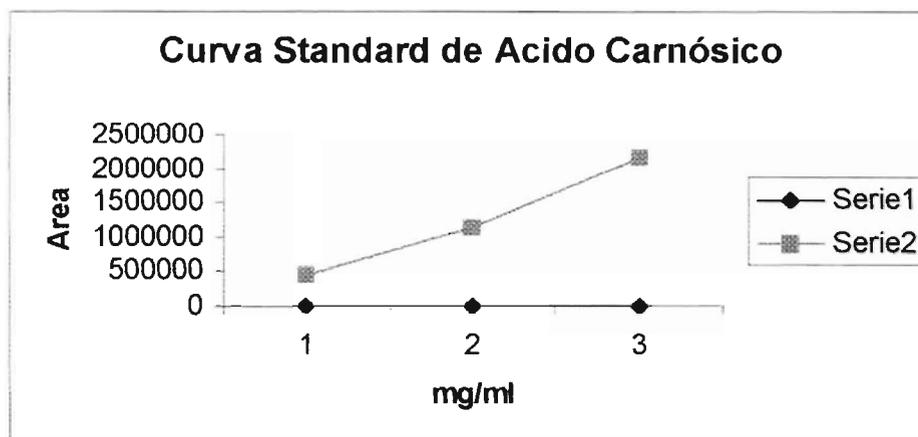
Materia grasa	Blanco	0.2% G	0.2% R UCV
Cerdo	0.76 ± 0.11	6.7 ± 0.5	16.8 ± 2.6
Emú	1.23 ± 0.084	9.33 ± 1.0	19.6 ± 0.7
Vacuno	1.58 ± 0.5	7.6 ± 0.5	37.1 ± 3.2
Salmón	< 0.5	< 0.5	0.71 ± 0.036
Aceite de Mosqueta	2.92 ± 0.015	3.8 ± 0.13	3.98 ± 0.14

- Aplicación de ambos extractos al 0.5% para las materias grasas más poliinsaturadas:

Materia grasa	Blanco	0.2% G	0.2% R UCV
Salmón	< 0.5	No dato	0.85 ± 0.087
Aceite de Mosqueta	2.92 ± 0.015	No dato	5.18 ± 0.78

- Perfil de ácidos grasos: Tesis
- Aplicación del método de cromatografía líquida de alta presión (HPLC) a los extractos de romero orgánico UCV y Guardián.

Cuantificación de los Principales Polifenoles (los picks más significativos) en el extracto chileno y comercial, dependiendo del tiempo de retención relativo al standard de ácido carnósico.



v Donde la Ecuación resultante es:

v $A = 9 \cdot 10^6 \cdot X - 34784$, con un $r^2 = 0.9998$

v donde A es el área que entrega el equipo y X es la concentración de la muestra.

Con esta ecuación de cuantificó los principales picks como por ejemplo:

- en guardián (G)

Epirosmanol	9.63
Carnosol	14.15
Rosmadial	7.16
Ac. Carnósico	17.9
Total(mg/g de extracto)	48.8

- en Romero UCV ®

Carnosol	27.75
Ac. Carnósico	44.04
Ac. Rosmarínico	215.9
Rosmanol	38.9
Total(mg/g de extracto)	326.7

Cálculo que se obtiene interpolando en la ecuación para luego llevarlo a la base con la cual se inyectó la solución de extracto al equipo HPLC.

- contenido de tocoferoles en el aceite de rosa mosqueta:(concentración promedio)

Tocoferoles	α	β	γ	δ
(ppm)	237.04	5.51	1222.97	29.58

- Aplicación del método de Folin-Clocalteu al extracto de romero orgánico y comercial, para medir fenoles totales.

Se realizó la curva en el espectrofotómetro, obteniendo:

$$Y = 0.069 X + 0.023 \quad \text{con un coeficiente de correlación igual a } 0.993$$

Donde Y es la Absorvancia (A) y X la concentración

Una vez interpolada en la ecuación se lleva a la base con la cual se preparó la solución a leer en el equipo. Dando los siguientes resultados:

Extracto	Concentración EAG mg/g de extracto
Romero ®	469.5 \pm 50.8
Guardián(G)	66.5 \pm 6.4

EAG ; equivalentes de ácido gálico.

Aplicación de la segunda etapa, método de Folin-Clocalteu cuantificar los fenoles totales y realizar una comparación en el Rancimat por igual concentración de fenoles totales para ambos extractos.

- Se llevó el cálculo a la misma base de fenoles totales al romero orgánico ® or Folin-Clocalteu a la concentración de guardián al 0.2%

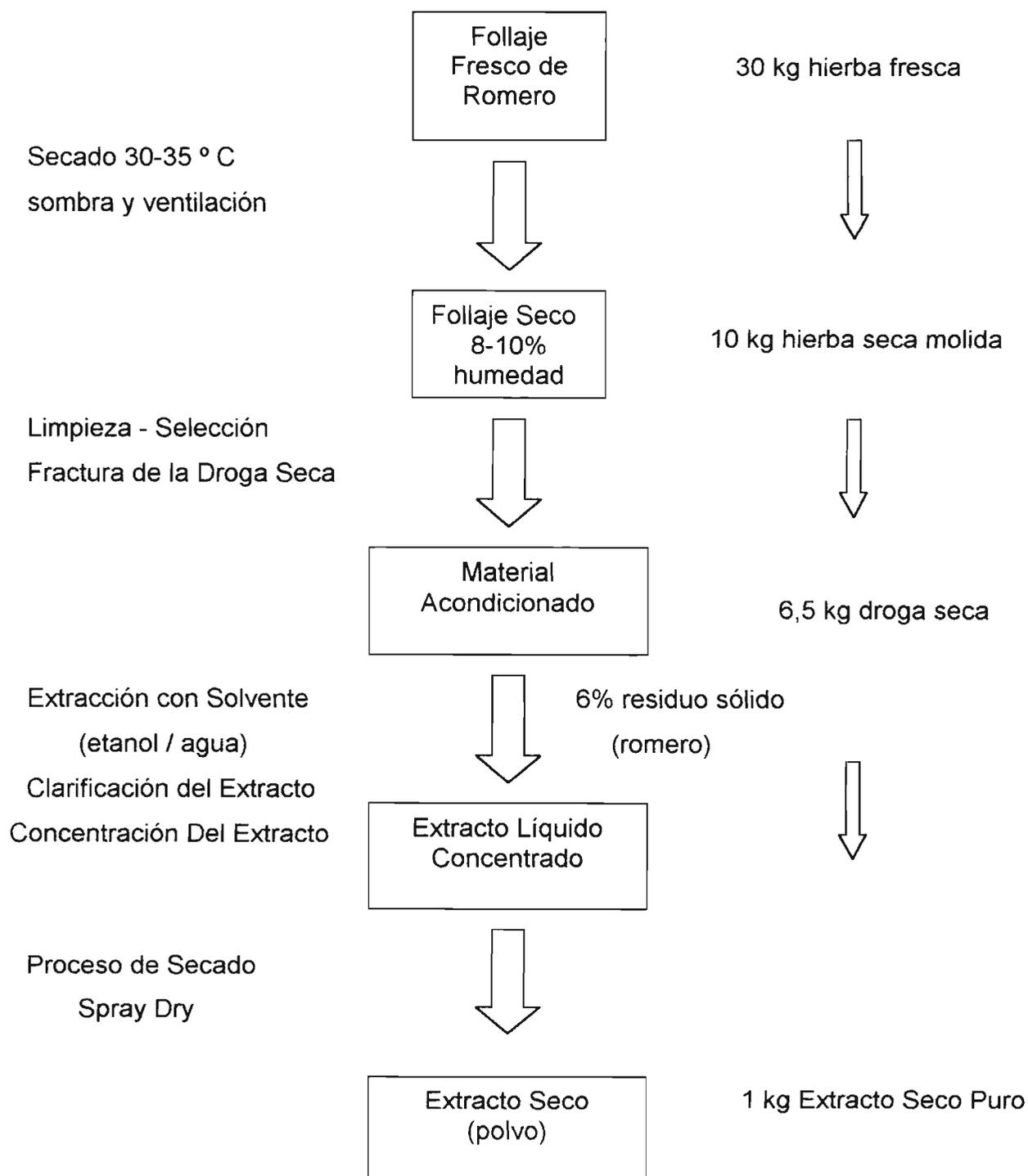
Materia grasa	0.2% G	= fenoles totales de Romero ®
Cerdo	6.7 \pm 0.5	4.08 \pm 0.26
Emú	9.33 \pm 1.0	3.9 \pm 0.11
Vacuno	7.6 \pm 0.5	Tesis
Salmón	< 0.5	Tesis
Aceite de Mosqueta	3.8 \pm 0.13	No dato

Ver Tesis para ampliar información de los resultados (Flores, 2004).

6. Análisis económico de la tecnología que se desarrolló en el proyecto.

La tecnología se desarrolló sólo a escala semi-piloto, lo que implica costos que no son aplicables a escala industrial, por ejemplo en la elaboración del extracto con Spray Dry.

El proceso desde el material vegetal cosechado a la materia prima estandarizada se resume en:



Costos de elaboración de un kg de extracto seco puro (escala semipiloto)

	\$/unidad	Volumen Procesado	\$ Total	
Materia prima fresca	P 1 \$ 300 /kg P 2 \$ 500 /kg	30 kg (seco)	\$ 9.000	\$ 15.000
Secado	\$ 40 / kg	30 kg (seco)	\$ 1.200	\$ 1.200
limpieza, selección, fractura	\$ 2.000	6,5 kg (seco)	\$ 13.000	13.000
obtención del extracto líquido (proceso, solventes, mano de obra)	\$ 5.390	6,5 kg (seco)	\$ 35.000	35.000
Proceso Spray Dry (para 60-70 lt mínimo)	-	-	\$ 103.800	\$ 103.800
Costo \$1 kg extracto seco	-	-	\$ 162.000	\$ 168.000
Costo USD (\$ 580,0)	-	-	USD \$ 279,3	USD \$ 289,6

El costo de obtención del extracto seco de la investigación fue de \$ 162.000 por kg, donde el principal costo corresponde al proceso de secado Spray Dry (sobre un 60 %). Este costo no es comparable a lo que ocurre en los procesos industriales, ya que los altos volúmenes que evaporan bajan considerablemente los costos del proceso. Para determinar el costo real de obtención del extracto de romero, sería necesario hacer un escalamiento industrial de prueba. En el mercado, un extracto seco de planta medicinal tiene un valor de USD \$ 100-120 / kg*.

Por otra parte, este es el costo de un extracto puro y no resulta comparable a los extractos que se comercializan, los cuales tienen menos cantidad de compuestos antioxidantes y están en algún soporte líquido o sólido.

Respecto a proveedores internacionales de extractos antioxidantes de romero, tenemos los ejemplos de las empresas Sabinsa Corporation, Danisco y Esencias Martínez Lozano. Los

* Fuente: Laboratorio Ximena Polanco

productos que emplean romero pueden variar de acuerdo a sus usos. Por ejemplo, Sabinsa Corp. ofrece extracto de rosmarinus estandarizado (6% de ácido carnósico, 1% de ácido rosmarínico y 1,5% de ácido ursólico), destacando sus propiedades para uso interno y externo en la salud humana (antioxidante, antitumoral, antimutagénico), y precios de USD \$ 65,00 el producto + USD 20 envío / por kg, si se compra 5 kg. (no incluye gastos de importación)*.

La empresa Danisco, proveedor de GUARDIAN, ofrece el producto como un antioxidante natural para alimentos que contienen grasas y aceites, sin referencia a contenidos de compuestos antioxidantes. Bajo la metodología de química analítica aplicada en esta investigación, una muestra de GUARDIAN entregada por la empresa Prinal presentó contenidos de 1,4 % de ácido carnósico y 0,06 % de ácido rosmarínico, verificando también la presencia de ácido ursólico. Esta no es suficiente información para comparar los antioxidantes presentes, ya que como se evaluó en los ensayos sobre aceites y grasas, Guardian presentó otros compuestos antioxidantes (epirosmanol, carnosol, rosmadial) además del ácido carnósico.

La empresa española, Esencias Martínez Lozano, ofrece al menos tres productos en polvo, líquido y en pasta (soportes maltodextrina, propilenglicol y aceite vegetal), recomendados principalmente para usar en productos alimentarios grasos de origen animal o vegetal. Los productos, ofrecidos como antioxidante alimentario, son desodorizados (excluyen aceites esenciales, canfor) y quitan casi la totalidad de la clorofila.

El producto obtenido por Spray Dry pierde sus aceites esenciales, pero quedan residuos con aroma y mantiene un color amarillo – verdoso pálido. Sería necesario desde el punto de vista del producto terminado y de las empresas interesadas, estudiar características específicas que les interesen, por ejemplo si el producto debe o no contener clorofila, si debe desodorizarse, etc., lo cual requiere más investigación. También se debe ver la conveniencia de mantener la característica de ser un potencial aditivo para la elaboración de productos orgánicos.

www.sabinsa.com

www.danisco.com

<http://personales.larural.es/esencloz/>

* Fuente: Cotización vía fax.

7. Problemas enfrentados durante la ejecución del proyecto (legales, técnicos, administrativos, de gestión) y las medidas tomadas para enfrentar cada uno de ellos.

Técnicos

1 Aumentar la población de un clon seleccionado de tomillo.

Para este objetivo, la propagación invernal presentó lenta formación de raíces, luego se postergó el inicio de las mediciones hasta la semana 11, extendiendo el período por dos meses.

La pérdida del invernadero y camas tecnificadas de propagación, a causa de la salida de un estero e inundaciones (invierno 2002) limitó la ejecución de un tercer ensayo de propagación con diseño experimental.

2 Determinar la composición química y porcentaje de aceites esenciales en tomillo bajo tres épocas de cosecha y dos estados fenológicos.

La heterogeneidad en la apertura de las flores dentro de la misma planta implicó reducir de tres a dos estados fenológicos: follaje y plena floración, para las evaluaciones.

4 Caracterizar los principales componentes químicos (antioxidantes) de la materia fresca, materia seca en romero durante el año y de aceites esenciales de acuerdo a su floración

La extensión del período de validación de protocolos de extracción y análisis de los compuestos antioxidantes (ácido rosmarínico, ácido carnósico y ácido ursólico), generó un atraso en el primer muestreo (verano) y su traslado a la próxima temporada.

5 Comparar los principales componentes químicos de materia fresca, materia seca, extracto seco y aceite esencial de romero

La elaboración del extracto necesitó de numerosas pruebas y evaluaciones del proceso de obtención que no estaban contempladas en un comienzo porque no se sabía el comportamiento que tendría el romero ni el comportamiento de los compuestos antioxidantes. Esto significó redistribuir los análisis de antioxidantes, y no realizar aquellos muestreos de los cuales ya teníamos antecedentes previos.

El método Gravimétrico empleado para evaluar contenidos de ácido ursólico en follaje fresco y seco, no fue adecuado para cuantificar este compuesto en el extracto seco (polvo) puro o con maltodextrina. El análisis en este caso se realizó para detectar su presencia.

Período de Extensión:

Se presentaron dificultades para emplear estufa a temperatura controlada de 40^a y constante. No se pudo disponer de una estufa en forma exclusiva para los extractos durante los 15 meses, como se propuso inicialmente. El elevado costo de una estufa para uso exclusivo no permitió resolver esta situación. Se pudo prescindir del estudio de estabilidad acelerado (40°C) para los fines de la extensión del proyecto.

Gestión

Problemas para la adquisición de equipo de destilación inicialmente cotizado (Estados Unidos) derivaron en la necesidad mandar a construir un equipo a una empresa de la región, resultando uno de mayor capacidad de procesamiento.

La participación de empresa Prinal (abastecen de aditivos alimentarios a diversas empresas) consistió en aportar el extracto comercial GUARDIAN (base antioxidantes de romero) de origen español, para analizarlo químicamente y compararlos al extracto de romero chileno. Aún cuando el extracto de la investigación tiene una actividad antioxidante superior al que ellos utilizan, como aditivo antioxidante les interesa un extracto desodorizado, característica que no tiene el extracto seco obtenido. Tampoco hicieron distinción en el origen no sintético para productos orgánicos, ya que en sus procesos industriales mezclan aditivos de distinto origen para abastecer a empresas de alimentos (cecinas, etc.). Luego, no continuaron participando de esta iniciativa.

Para subsanar la ausencia de participación de empresas se continuó, en la segunda parte del proyecto, con la participación directa (Asociada) del Laboratorio Ximena Polanco, el cual elaboró varios productos que incluyen extracto de romero y que están en etapa de promoción y ventas (Romos-suplemento alimentario, mermeladas, chocolates y cremas cosméticas). También se entregó extracto a la empresa Nestlé para que lo evaluaran en sus laboratorios.

8. Calendario de ejecución (se adjunta en Anexo 9) y cuadro resumen de costos del proyecto.

8.1 Financiamiento Solicitado a FIA (primera etapa)

Cuadro Resumen (MODIFICADO 6/1/03) desglosado por ítem y por año

Ítem de Gasto	Año 0	Año 1	Año 2	Año 3	Año 4	TOTAL
EQUIPAMIENTO	0	0	0	0	0	0
RECURSOS HUMANOS	1.912.000	14.302.080	12.667.700	5.786.816	0	34.668.596
MOVILIZACIÓN	100.000	624.000	566.301	0	0	1.290.301
MATERIALES E INSUMOS	350.000	1.352.000	1.146.496	232.917	0	3.081.413
SERVICIOS DE TERCEROS	1.090.000	832.000	2.006.368	1.090.554	0	5.018.922
DIFUSIÓN	0	176.800	183.872	597.459	0	958.131
GASTOS GENERALES	422.200	2.118.688	2.070.940	1.198.155	0	5.809.983
IMPREVISTOS	193.711	976.518	942.705	27.892	0	2.140.826
SUBTOTAL	4.067.911	20.382.086	19.584.382	8.933.793	0	52.968.172
ADQUISICIÓN DE EQUIPOS	1.870.817	0	0	179.978	0	2.050.795
SUBTOTAL	1.870.817	0	0	179.978	0	2.050.795
TOTAL SOLICITADO	5.938.728	20.382.086	19.584.382	9.113.771	0	55.018.967

8.2 Financiamiento Solicitado a FIA (segunda etapa)

Cuadro Resumen desglosado por ítem y por año

Ítem de Gasto	Año 3	Año 4	TOTAL
EQUIPAMIENTO	0	0	0
RECURSOS HUMANOS	4.441.976	624.000	5.065.976
MOVILIZACIÓN	350.000	343.200	693.200
MATERIALES E INSUMOS	180.000	0	180.000
SERVICIOS DE TERCEROS	2.204.979	370.483	2.575.462
DIFUSIÓN	0	1.040.000	1.040.000
GASTOS GENERALES	1.479.043	858.453	2.337.496
IMPREVISTOS	432.800	161.807	594.607
TOTAL SOLICITADO	9.088.798	3.397.943	12.486.741

Los gastos realizados durante la ejecución del proyecto se realizaron acorde a las actividades programadas y ejecutadas, sin imprevistos.

9. Difusión de los resultados obtenidos

Publicaciones no hay.

Se realizaron diversas actividades de difusión durante el transcurso del proyecto (período Noviembre 2000 - Mayo 2003 y Junio 2003 – marzo 2005)

1. Participación durante el día abierto (octubre 2002-2003) de la Facultad por medio de un panel y visita a las parcelas experimentales. Durante ese día la Facultad recibe alrededor de 1.500 personas, en su gran mayoría agricultores.
2. Recepción periódica de visitas a la Facultad y los ensayos; son Grupos organizados que solicitan visitar las plantaciones.

Visita representantes de Ceader Leaf, Canadá, de agricultores o interesados en el área, representantes de Fundación Chile, representantes de MIFA (Asociación de Aroma terapeutas de Inglaterra) y de Médicos Descalzos, durante la primera parte del proyecto.

3. Presentación de resultados en el Congreso Agronómico y otros encuentros de difusión.

Presentación de Poster/resumen:

MOREND, L. FREDES, C. y VERDUGO, G. 2002. Caracterización estacional de principios antioxidantes de romero (*Rosmarinus officinalis*) en Quillota, V Región. 53° Congreso Agronómico de Chile. p. 142. Fac. de Agronomía, Universidad Católica de Valparaíso. Quillota. Chile. (Resumen) Proyecto FIA C-00-1-A-071. Simiente 72 (3-4) julio-diciembre.

Presentación de Poster con antecedentes básicos del Proyecto en el "Encuentro Plantas Medicinales y Aromáticas, Mercado y Calidad" organizado por FIA y realizado en Talca el 31 de mayo de 2001.

4. Charla de Avance de resultados del proyecto: nov. 2002, en La Facultad de Agronomía PUCV. Período: noviembre 2000- noviembre 2002.

Se adjunta la información entregada en Anexo 6

5. Charla Final de difusión de resultados proyecto: Actividad de difusión conjunta con la empresa participante, Laboratorio Ximena Polanco. Período noviembre 2000-marzo 2005.

INVITACIÓN

La Facultad de Agronomía de la Universidad Católica de Valparaíso, laboratorio Ximena Polanco y la Fundación para la Innovación Agraria le invitamos cordialmente a un encuentro sobre producción y usos de antioxidantes y antisépticos naturales desarrollados en la ejecución del proyecto FIA “Obtención y caracterización de aceites esenciales, extracto seco y materia seca de *Rosmarinus officinalis* y *Thymus vulgaris*, provenientes de cultivos orgánicos y sus aplicaciones en poscosecha e industrialización de alimentos”. Se expondrá sobre producción de principios activos, costos de producción, usos y aplicaciones industriales.

La actividad es sin costo, se desarrollará el 30 de marzo entre las 15 y 18 horas en el Hotel Torre Mayor ubicado en Ricardo Lyon 322, metro estación Los Leones, rogamos confirmar la asistencia al fono 32-274514 (Angela) o al mail gverdugo@ucv.cl

PROGRAMA:

15:00 Entrega Carpetas

15:15 INTRODUCCIÓN : Gabriela Verdugo

15:30 DESCRIPCIÓN Y RESULTADOS DEL PROYECTO : Ligia Morend; Carolina Fredes

16:30 Café y presentación de productos

17:00 RESULTADOS TESIS: Marcos Flores

“ Evaluación de Extracto de Romero Orgánico (*Rosmarinus officinalis*) Producido en Chile Como Antioxidante Natural Aplicado en Bases Grasas Animales y Vegetales”:

17:30 COMENTARIOS Y ALCANCES FUTUROS : Ximena Polanco

Se adjunta la información entregada a los asistentes en ANEXO 6.

10. Impactos del proyecto

Al final de la investigación se cuenta con un clon de *Thymus vulgaris* caracterizado químicamente, que contiene sobre un 20 % de timol en su aceite esencial lo que lo hace interesante como antiséptico. Los resultados indican que el efecto de la aplicación de aceite esencial de tomillo en solución en poscosecha de espárragos y radicchios es una alternativa real a la utilización de tratamientos con hipoclorito de sodio, en especial en sistemas de producción orgánica aportando un gran beneficio a la salud de los operarios y al medio ambiente.

La especie *Rosmarinus officinalis* selección Limache también está caracterizada químicamente por su aceite esencial y sus antioxidantes. La presencia de los tres compuestos antioxidantes

durante todo el año y la validación de su uso como antioxidante en materias grasas y aceites le permite un regular abastecimiento de materia prima y la hace una fuente importante y accesible de este tipo de productos.

Los contenidos de antioxidantes (ác. Rosmarínico, ácido Ursólico, ácido Carnósico) detectados en el extracto seco, la calidad físico-química y su estabilidad en el tiempo, además de sus propiedades medicinales y antioxidantes permiten una amplia diversificación de usos y elaboración de nuevos productos. Otro aspecto interesante es que el extracto antioxidante es compatible con los criterios de elaboración de productos ecológicos y un potencial aditivo en este tipo de productos.

En resumen la investigación valida el uso antiséptico / antioxidante de las especies tomillo y romero, para un mejor aprovechamiento industrial (alimentos, cosmética, fitofarmacia), obtiene productos naturales que pueden sustituir sustancias sintéticas o de riesgo para la salud y permite destacar las propiedades de estas especies para su uso en la salud humana (antisépticas, antioxidantes, antimutagénico, antilipoperoxidante, antitumoral, antiinflamatorio, etc.). Desde el punto de vista agrícola es una investigación agrícola dirigida a la industria, con una materia prima caracterizada químicamente desde la planta.

Como parte del proceso de Difusión se espera que los resultados y conclusiones aportados en la presentación de resultados, constituyan una base de información que interese a empresas del rubro alimentario, fitofarmacéutico y cosmético para la utilización de estas especies vegetales seleccionadas y caracterizadas, en la elaboración de nuevos productos, y sean consideradas como fuente de interesantes principios químicos de origen natural, sustitutos de sustancias sintéticas empleadas en la conservación de alimentos y con alto potencial fitofarmacéutico y dermocosmético. Se espera en forma concreta que este resultado entregue alternativas viables a la actual necesidad de la industria alimentaria de sustituir sustancias sintéticas antioxidantes que son adicionadas en los alimentos, por ejemplo en la elaboración de productos para niños y que tenga un efecto fomentando el empleo de antisépticos naturales en las prácticas agrícolas de poscosecha, especialmente si existe interés en desarrollar la cadena de producción orgánica para un determinado rubro.

El Proyecto en término de impactos futuros, propone cambios en los hábitos de consumo de los alimentos, eventualmente, la eliminación de sustancias de riesgo de los alimentos y del

medioambiente, trae el mayor beneficio para la salud humana. Desde el punto de vista fitofarmacéutico, nutracéutico y dermocosmético también fomenta el empleo de extractos provenientes de selecciones vegetales caracterizadas e identificadas químicamente, como parte de un proceso de estandarización del producto final.

11. Conclusiones y Recomendaciones

La especie aromática *Thymus vulgaris* se puede propagar vía vegetativa sin dificultades, durante la época de primavera-verano, bajo condiciones ambientales con humedad controlada (mist). El uso de hormona enraizante (IBA) favorece la longitud de raíces en estacas herbáceas y semileñosas. La propagación vegetativa se recomienda para mantener las características del clon seleccionado.

El tomillo seleccionado obtuvo un máximo rendimiento de timol en cosechas de verano, en estado de plena floración (23,4-24,4 % de timol y 1,35 % de aceite esencial). El periodo más adverso es pleno invierno. Aunque no constituye un quimiotipo tipo timol, el contenido sobre un 20 % permitió su aplicación como antiséptico sustituto del cloro en tratamientos de poscosecha de espárragos y radicchios.

Los resultados de los ensayos en espárragos y en radicchios indicaron en términos generales, que el efecto de la aplicación de aceite esencial de tomillo en solución es comparable a la utilización de tratamientos basados en hipoclorito de sodio. Las concentraciones utilizadas, no afectaron el aroma ni causaron fitotoxicidad, lo que permitiría la formulación de un producto antiséptico industrial, previo estudios específicos sobre cepas de patógenos de poscosecha y de toxicidad en humanos. Esto significa una alternativa efectiva para productores de estos rubros, especialmente bajo sistema de producción orgánico.

En *Rosmarinus officinalis* selección Limache se identificaron los tres antioxidantes en estudio, el ácido rosmarínico, el ácido carnósico y el ácido ursólico, comprobándose lo indicado en bibliografía. Los compuestos estuvieron dentro de los rangos esperados para la especie. Además del genotipo de las plantas, se observó que los contenidos de antioxidantes están influenciados por las estaciones del año, los procesos de secado de la hierba fresca, de obtención de extractos (uso de alcohol, temperaturas, luz) y las condiciones ambientales (luz,

temperatura, aire y humedad) en su conservación. También es relevante el método analítico empleado para los análisis de composición.

La evaluación de las cuatro temporadas concluyó que los tres compuestos antioxidantes están presentes durante todo el ciclo anual, tanto en hierba fresca como hierba seca (follaje). El ácido rosmarínico mantiene un rango estable (0,49-1,3%), el ácido carnósico aumenta hacia primavera-verano (5,6%), con un mínimo en invierno (2%), y el ácido ursólico tiene un comportamiento irregular, con un mínimo en verano (3,7%) y alzas en primavera (6,43%) y otoño (11-13 %). El ácido rosmarínico se presentó como el más sensible al proceso de secado y el ácido carnósico el menos sensible.

Los aceites esenciales de romero evaluados en verano, otoño y primavera, en estado de follaje, inicios de floración y plena floración dieron 2,7 a 3,5 % de aceite esencial sobre hierba seca y se observó que los compuestos analizados mantienen su proporción entre ellos: a y b pineno 15-21,7% ; cineol: 22,8-26,9 % ; canfor: 15,2-26 % ; borneol: 1,2-4.8%, constituyendo un 62,8-71,5% del aceite esencial. El % de aceite esencial fue alto con relación a antecedentes bibliográficos. Contenidos sobre un 40-50 % de canfor+cineol también le da características antisépticas.

El cultivo de romero en condiciones de clima mediterráneo (Los Andes) reveló un buen comportamiento de la planta bajo condiciones más extremas de temperatura (-6°C) en invierno. La floración se concentró en primavera-verano, a diferencia de floraciones invernales en los cultivos de Quillota. Sus aceites esenciales mantienen la proporción de los componentes a y b pineno, cineol, canfor y borneol, con ligera disminución del b-pineno y aumento del canfor.

El extracto seco de romero obtenido por Spray Dry dio resultados promisorios. El extracto elaborado a partir de hierba seca, en verano, alcanzó los más altos niveles de antioxidantes (9% de ácido carnósico y 4,2 % de ácido rosmarínico), atribuido a una optimización del proceso. El proceso de fabricación del extracto requirió de condiciones controladas, con una mínima exposición a la luz y al solvente etanol. Así mismo se verificó la presencia de ácido ursólico en todas las muestras.

Respecto al extracto de romero, no se encontraron efectos significativos con relación a los testigos, en las aplicaciones sobre palta y chirimoya (estado de pulpa y troceada). El rol

antioxidante del romero no estaría relacionado al pardeamiento enzimático y tampoco sería, bajo estas condiciones experimentales, una alternativa viable para solucionar este problema.

Los resultados en la segunda parte de la investigación son positivos tanto para la elaboración de materia prima estandarizada, como para el uso del extracto en aceites y grasas.

Se obtuvo un polvo seco, amarillo, sin grumos, homogéneo y aromático. El extracto seco con adición de maltodextrina cumplió con las especificaciones de calidad microbiológica y el estudio de Dosis Letal 50 demostró que el extracto fabricado es inocuo y no ofrece peligro. Presentó buenas características físicas, organolépticas, químicas, de estabilidad y facilidad de manejo, lo que permitiría la formulación de un producto. El extracto fue estandarizado a escala semi-piloto y se obtuvo una materia prima adecuada para usos cosméticos y fitofarmacéuticos.

Se presentó una disminución de los compuestos antioxidantes en ambos extractos, en períodos largos de almacenaje en envases herméticos y aislados de la luz y la humedad. Las bajas temperaturas (5-10 °C) favorecieron la permanencia de los compuestos antioxidantes estudiados con relación a temperaturas ambientales. Es así como se obtuvo una disminución de 9 a 6,1 % (32,2%) del ácido carnósico y de 4,2 a 3,4 % (19%) del ácido rosmarínico en el extracto puro, en un período de 26 meses a 5-10°C. A diferencia de esto, el extracto con maltodextrina, presentó una disminución de 3,8 a 2,4 % (36%) del ácido carnósico y de 2,1 a 1,8 % (14,3%) del ácido rosmarínico en un período de 15 meses a temperatura ambiental. El ácido ursólico se detectó en todas las muestras.

El extracto de romero presentó buen comportamiento antioxidante sobre aceites vegetales (rosa mosqueta) y grasas animales (cerdo, vacuno, emú), con una acción comparable a extractos comerciales. La diferencia que se observa en los resultados de análisis químicos (ácido rosmarínico y ácido carnósico) del extracto de verano de 2003 con relación a los ensayos en grasas y aceites se atribuyeron a los métodos analíticos empleados y al tiempo transcurrido entre la obtención del extracto y su aplicación (2004). Aún así el extracto de romero mantuvo una alta cantidad de polifenoles (siete veces mayor al comercial), y presentó actividad antioxidante, dos veces superior en aceite de emú y grasa de cerdo y tres veces superior en grasa de vacuno, comparado con extracto comercial.

12. Otros aspectos de interés

Se ha continuado con extracciones de aceite esencial mediante arrastre con vapor de agua, proporcionando este material para tesis en el área de poscosecha (Facultad de Agronomía) y su utilización en peces (Facultad de Ciencias del Mar), para su evaluación como antiséptico.

Está en proceso de formulación un proyecto para emplear el romero en peces, por sus propiedades antioxidantes y medicinales (Facultad de Ciencias del Mar)

14. Bibliografía Consultada

Boelens, M. 1985. The essential Oil from *Rosmarinus officinalis* L. Perfumer and Flavorist, oct/nov 1985

Cañigüeral, S. 1994. Significación biológica de los aceites esenciales y su variabilidad infraespecífica. II Simposio Internacional Química de Productos Naturales y sus Aplicaciones. Sociedad Chilena de Química. Universidad de Concepción.

Cañigüeral, S. 2000. Usos terapéuticos del Tomillo. Revista de Fitoterapia. N°1 año 1.

C.E.E. (U.E.), 1991. Normas de la Comunidad Económica Europea para la Agricultura ecológica. Bruselas, C.E.E. (Unión Europea)

CUVELIER, M. E., RICHARD, H., BERSET, C. (1998) Characterization of two new carnosic acid derivatives by spectrophotometry, mass spectrometry and electrochemical detection. 2º International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry. <http://www.mdpi.org/ecsoc/> September 1 – 30, 1998.

DUKE, J. (2000) Chemicals and their Biological Activities in *Rosmarinus officinalis* L. Phytochemical and Ethnobotanical Database. Beltsville Agricultural Research Center, Beltsville, Maryland. U.S.

FIDEL, 2000. Topics in Food Chemistry. Instituto Superior Técnico. Technical University of Lisbon. Portugal.

- Fitomédica, 1998. El Uso de las Plantas Medicinales en Europa. Fitomédica, nº 18, dic.1998. Barcelona, España.
- GABALDÓN, M. J., SORIANO, M. C., CORREAL, E. (1998) Influence of fenologycal stages of *Rosmarinus officinalis* L. on its content in antioxidant polyphenols. 2º International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry. <http://www.mdpi.org/ecsoc/> September 1 – 30, 1998.
- García, H.1953. Esencias Naturales, Madrid, Aguilar. 406 p.
- Guenther, E. 1954. The Essential oils. New York, D. Van Nostrand Company, INC. 427 p.
- International Federation of Organic Agriculture movements. 2003. Normas para la producción y procesado orgánico. www.infoam.org
- INTEGRAL, 1999.. Invasión de Plaguicidas. Por Nuñez. M y Navarro, C. Julio 1999. Barcelona, España.
- Lambert, 1994. Enciclopedia de las especias. El Ateneo, Bs. Aires. 287 p.
- López-Sebastián, S.; Ramos, E.; Ibáñez, E.; Bueno, J.; Ballester, L.; Tabera, J.; Reglero, G. (1998). Dearomatization of Antioxidant Rosemary Extracts by Treatment with Supercritical Carbon Dioxide. *J. Agric. Food Chem.* 1998, 46, 13-19.
- Moure, A y Ruiz, A. 2002. XXXV Curso Internacional de Ingeniería Bioquímica “Antioxidantes: Propiedades y Tecnologías de extracción”. Universidad Católica de Valparaíso.
- NAV. , 2000. Natural Apothecary of Vermont. <http://www.organicoils.com>
- Polanco, X. 2000. Experiencia en la extracción de principios activos en la industria. Laboratorio Ximena Polanco. Seminario Internacional. Plantas medicinales: Mercado, Cultivo y Procesamiento. Marzo 2000.Universidad de Concepción.

P&F. Lawrence, B. 1985. A Review of the World Production of essential Oils. P&F, oct/nov. 1985. IL, USA

P&F. Unger, L. 1986. Worldwide Merchant Sales of Flavors and Fragans (1984 1990). P&F, apr/may 1986. IL, USA.

P&F. Unger, L. 1989. Basic Business Trends in the Worldwide Flavor and Fragans Industry 1987-1990. P&F, may/jun 1989. IL, USA.

Rizbi, S.; Daniels, J.; Benado, A.; Zollweg, J. (1986) Supercritical Fluid Extraction: Operating Principles and Food Aplications. Food Technology. July 1986. 57-64.

Tateo, F. Et al. 1988. Rosmarinus officinalis L. Extract Production Antioxidant and Antimutagenic Activity. P&F, diciembre 1988. IL, USA

UCV-FIA (1999). Desarrollo de la Producción de Plantas Medicinales y Aromáticas.

WOCMAP II, 1997. II World Congress on Medicinal and Aromatic Plants for Human Welfare. ICMAP-ISHS-SAIPA. Mendoza, Argentina.

Yahuaca, P., Gutierrez, R. y Alvarado, J. 2001. Actividad Anti-lipoperoxidante de diversos compuestos antioxidantes. Su participación en el daño hepático. V. Jornada de Investigación, Universidad Autónoma de Zacatecas.

14. Anexos

Anexo 1. Referencias de composición del romero

Anexo 2. Análisis de ácido ursólico en extractos de romero y productos derivados.

Anexo 3. Estudio Rancimat del Extracto de Romero Seco

Anexo 4. Estudio Microbiológico

Anexo 5. Estudio Dosis Letal

Anexo 6. Presentaciones

Obtención y caracterización de aceites esenciales, extracto seco y materia seca de *Rosmarinus officinalis* y *Thymus vulgaris*, provenientes de cultivos orgánicos y sus aplicaciones en postcosecha e industrialización de alimentos, Proyecto FIA C-00-1-A-071

Presentación Resultados finales: Ligia Morend, Ing. Agr., Carolina Fredes Ing. Agr.,
Gabriela Verdugo Ing. Agr., Marzo 2005

Presentación Avance de Resultados: Ligia Morend, Carolina Fredes, Facultad de
Agronomía. Noviembre 2002

Presentación: Marcos Alexis Flores García, Marzo 2005

Presentación Ximena Polanco, Laboratorio Ximena Polanco, Marzo 2005

Anexo 7. Asistentes a Charla de Difusión Final

Anexo 8. Laboratorios CANALAB

Anexo 9. Calendario de ejecución

ANEXO 1. Referencias de composición del romero

Nombre compuesto	(1) Referencia: parte de la planta/ppm	%parte de la planta	(2) Investigación selección Limache % (Gr/100 gr) en base seca		(4) Investigación ecotipos españoles	
			(3) Extraída de muestra fresca	(3) Extraída de muestra seca	"El Bebedor"	"Casagrande"
Ácido carnósico	Planta: Sin información	Planta: Sin información	Otoño: 1,978 %	Otoño: 4,282 %	-	-
			Invierno: 3,266 %	Invierno: 3,718 %	Invierno: 0,09	Invierno: 0,48
			Primavera: 5,183 %	Primavera: 4,803 %	Primavera: 0,56	Primavera: 1,60
			Verano: 4,753 %	Verano: 5,632 %	Fines Verano: 1,77	Fines Verano: 0,70
Carnosol	Hojas: 530 – 9.803 ppm	Hojas: 0,053 – 0,98 %			Invierno: 1,75	Invierno: 2,17
					Primavera: 1,28	Primavera: 3,57
					Fines Verano: 1,45	Fines Verano: 1,56
Ácido rosmarínico	Hojas: 3.500 ppm Planta: 25.000 ppm Brotos: 13.500ppm Cultivo de tejido: 38.957 ppm	Hojas: 0,35 % Planta: 2,5 % Brotos: 1,35 % Cultivo de tejido: 3,89 %	Otoño: 0,791 %	Otoño: 0,528 %	-	-
			Invierno: 1,288 %	Invierno: 0,594 %	Invierno: 0,98	Invierno: 2,46
			Primavera: 1,014 %	Primavera: 0,490 %	Primavera: 0,82	Primavera: 0,43
			Verano: 0,807 %	Verano: 0,572 %	Fines Verano: 4,63	Fines Verano: 4,88
Ácido ursólico	Planta: 28.000– 41.000ppm Brotos: 20 ppm	Planta: 2,8 – 4,1 % Brotos: 0,002 %	Otoño: -	Otoño: -	-	-
			Invierno: 8,222 %	Invierno: 5,830 %	-	-
			Primavera: 13,52 %	Primavera: 6,427 %	-	-
			Verano: 3,677 %	Verano: 3,935 %	-	-

(1) DUKE, J. (2000) Chemicals and their Biological Activities in *Rosmarinus officinalis* L. Phytochemical and Ethnobotanical Database. Beltsville Agricultural Research Center, Beltsville, Maryland. U.S.

(2) muestras de follaje con algunas sumidades en flor, de brotes terminales de 30 – 40 cm en otoño, invierno, verano; sólo follaje en primavera

(3) Extraída con doble extracción

(4) 2º extracción

ANEXO 2. Análisis de ácido ursólico en extractos de romero y productos derivados



UNIVERSIDAD TECNICA
FEDERICO SANTA MARIA

Análisis de ácido ursólico en extractos de romero y productos derivados :

El análisis de ácido ursólico en extracto de romero y otras formulaciones , generados durante este estudio , adolece de imprecisiones por las razones que se indican :

- El ácido ursólico no presenta absorción significativa en el rango ultravioleta-visible ; por lo tanto su detección espectrofotométrica carece de sensibilidad.
- Si con el fin de aumentar la posibilidad de detección mediante HPLC ; se utiliza una alta cantidad de muestra , los otros componentes de la muestra se superponen a la señal del ácido ursólico, impidiendo su detección.
- Además , si se usan grandes cantidades de muestra , al inyectar la porción de prueba en el cromatógrafo HPLC , se produce saturación de la columna analítica y gran deterioro.
- Por las razones anteriores , se ensayó un procedimiento para la cristalización y estimación del contenido de ácido ursólico mediante gravimetría (en pequeña escala) . este procedimiento produjo valores aceptables , al tratarse de extractos de plantas (hojas) ; pero no puede aplicarse a muestras basadas en maltodextrinas , por cuanto no se puede eliminar esta última en forma sencilla , obteniendo contenidos de ácido ursólico distorsionados y excesivamente altos .

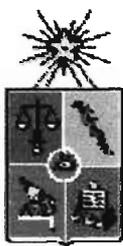
Otros medios de detección , cómo por ejemplo HPTLC (cromatografía de placas de alta resolución automatizada) , no está disponible en nuestro laboratorio.

UNIVERSIDAD TECNICA FEDERICO SANTA MARIA
DEPARTAMENTO DE QUIMICA
SERVICIOS ANALITICOS

Valparaíso, 22 de Marzo de 2005

UNIVERSIDAD TECNICA FEDERICO SANTA MARIA
DEPARTAMENTO DE QUIMICA
SERVICIOS ANALITICOS

ANEXO 3. Estudio Rancimat del Extracto de Romero Seco



UNIVERSIDAD DE CHILE - FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS
 DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE LOS ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA QUÍMICA
LABORATORIO DE QUÍMICA DE ALIMENTOS Y MATERIAS GRASAS
 VICUÑA MACKENNA Nº 20 - FONOS: 6781647 - 6781625 - FAX: (562)2227900 - CASILLA 233

INFORME

N° Interno : 23/2003
Solicitante : Srta. Carolina Fredes
Atención : Srta. Carolina Fredes
Análisis solicitado : Análisis de estabilidad determinado por método Rancimat

Fax:

I.

II. Tiempo de Inducción medido en Horas a 110° C

MUESTRA	T.I. (hs.)
Aceite de Rosa Mosqueta – Blanco –	5.38 +/- 0.01
Aceite de Rosa Mosqueta + 200 ppm Palmitato de Ascorbilo	8.92 +/- 0.01
Aceite de Rosa Mosqueta + 900 ppm Oxynex LM	8.18 +/- 0.01
Aceite de Rosa Mosqueta + 0.2 % de Extracto de Romero Chileno	7.27 +/- 0.01
Aceite de Rosa Mosqueta + 0.4 % de Extracto de Romero Chileno	7.92 +/- 0.01
Aceite de Rosa Mosqueta + 0.2 % Extracto de Romero Importado, marca comercial "Guardian"	7.11 +/- 0.01
Aceite de Rosa Mosqueta + 0.4 % Extracto de Romero Importado, marca comercial "Guardian"	7.42 +/- 0.01

Observaciones:

El extracto de romero nacional que se presenta en forma de polvo dispersable en aceite en la concentración de 0.4% presentó mejor protección del aceite de rosa mosqueta refinado en relación al extracto de romero importado (Guardian) usado en la misma concentración.

El mismo comportamiento se aplicó para el extracto de romero chileno en comparación con el importado en a concentración de 0.2%.

Conclusión:

El producto chileno se comportó como un buen antioxidante natural.

Fue superado por el antioxidante OxyneX LM y la adición de 200 ppm de Palmitato de Ascorbilo al mismo aceite de rosa mosqueta.

Prof. Lilia Masson S.
Químico Farmacéutico
Laboratorio de Química de Alimentos y
Materias Grasas

Santiago, Abril 29 de 2003.-

ANEXO 4. Estudio Microbiológico

BOLETIN DE ANALISIS

Santiago, 12 Abril de 2004

Muestra Condecap	:	Y-4430	Lote o Serie: 126193
Registro ISP	:	----	
Nombre del Producto	:	EXTRACTO SECO ROMERO (Proyecto FIA-UCV)	
Solicitado por	:	LABORATORIO HOMEOPATICO XIMENA POLANCO/ UNIVERSIDAD CATOLICA DE VALPARAISO	
Procedencia	:	---	Tamaño Envase: A granel
Fecha Elaboración	:	---	Fecha de Vencimiento: ----
Tamaño Lote	:	---	Tipo de Muestra: Materia prima
Total Muestras Recibidas	:	02 Frascos (42 g. aprox.)	
			Fecha Recepción: 26/03/04
Nombre del Fabricante	:	Laboratorio Ximena Polanco	
Condiciones de Almacenamiento	:	---	

Fecha Inicio: 31/03/04

Fecha Término: 07/04/04

Tipo de Análisis: Microbiológico

DESCRIPCION: Producto seco, en polvo, de color amarillo, sin partículas extrañas visibles, sin grumos, a granel.

(124)

<u>Análisis Solicitados</u>	<u>Especificaciones</u>	<u>Resultados</u>	<u>Cód. Met.</u>
Rto. Total de gérmenes aerobios mesófilos	< 10 ufc/g.	
Investigación de Escherichia coli	Negativo	

Investigación de Pseudomonas aeruginosa	Negativo	
Investigación de Staphylococcus aureus	Negativo	
Recuento de Hongos y Levaduras	< 10 ufc/g.	(3a3g)
Investigación de Salmonella	Negativo	(3sd) (C. 47/17)

Cepas de Referencia Patrón: E. coli ATCC : 8739; Ps. Aeruginosa ATCC : 23389; St. aureus ATCC : 6538; C. albicans ATCC : 10231; a. niger ATCC : 16404; Salmonella tiphy ATCC 8394.

Nota: Esta muestra no puede ser calificada debido a que no se cuenta con la especificación correspondiente, la que debe ser proporcionada por el cliente.

-0-

CCH/TS/ML/mo

Dra. Q.F. Teresa Ramelli B.
Director Técnico
CONDECAL LTDA.

El presente dictamen de resultados solamente da fe de la muestra recibida y analizada
 Alberto Riesco 0245 – Huechuraba – Fono: 56-2-6252517 – Fax: 56-2-6261954 – E-mail: condecalf@ctcreama.cl – www.condecalf.cl
 Santiago-Chile

ANEXO 5. Estudio Dosis Letal

INFORME DE TOXICIDAD ORAL AGUDA EXTRACTO DE ROMERO, PROYECTO C00-1-A-071 EXTENSIÓN, UCV-FIA

El estudio se realizó con ratones machos CF-1 adultos (18-21 g), comprados en el Instituto de Salud Pública de Chile. Los animales fueron separados en 7 grupos de 8 individuos cada uno y dejados en ayuno por 24 horas. Luego del ayuno, los animales recibieron en forma oral, por intubación gástrica, 1 mL/100 g de las siguientes suspensiones del extracto en estudio en 12 % Tween 80:

GRUPO	2. Dosis Extracto (g/kg)
1	5
2	2,5
3	1,25
4	0,6125
5	0,3
6 Control	vehículo

El grupo N° 6 recibió 1 mL/100 g de la solución en que fue suspendido el extracto (12 % Tween 80).

Los animales fueron observados cada 15 min durante la primera hora, luego cada media hora durante las dos horas siguientes, luego a las 6, 8 y 12 horas post-tratamiento y luego un vez por día durante 14 días. Durante los 14 días post-tratamiento los animales tuvieron acceso a alimentación y agua, y fueron mantenidos en un bioterio a 22 °C y con ciclos de luz/oscuridad de 12/12 h.

En las 2 primeras horas siguientes a la administración oral del extracto, 3 animales del grupo 1 presentaron alteraciones locomotoras, caracterizadas por temblor generalizado y dificultad para desplazarse. En los dos días siguientes murieron 2 animales del grupo 1 y 1 animal del grupo 2.

Al final de los 14 días de observación, se obtuvo el siguiente recuento de animales muertos:

GRUPO	3. N° de animales muertos
1	2
2	1
3	0
4	0
5	0
6 Control	0

Los pesos de los animales control y del grupo de dosis máxima ($2,4 \times 10^{10}$), al inicio y al final del experimento fueron los siguientes:

GRUPO	PESO INICIAL (g)	PESO FINAL (g)
1	19,7 ± 1,4	23,9 ± 1,8
7 Control	19,5 ± 1,5	24,2 ± 1,6

El cálculo de la DL_{50} utilizando el método de Litchfield y Wilcoxon dió un valor de 8,33 g/kg, lo que permite afirmar que el extracto de romero estudiado es un producto que no ofrece peligro.

Dr. Jaime Rodríguez Carvajal
Laboratorio de Cultivo Celular
Facultad Ciencias de la Salud
Universidad de Talca

ANEXO 6. Presentaciones

Obtención y caracterización de aceites esenciales, extracto seco y materia seca de *Rosmarinus officinalis* y *Thymus vulgaris*, provenientes de cultivos orgánicos y sus aplicaciones en postcosecha e industrialización de alimentos, Proyecto FIA C-00-1-A-071

Presentación Resultados finales: Ligia Morend, Ing. Agr., Carolina Fredes Ing. Agr.,
Gabriela Verdugo Ing. Agr., Marzo 2005

Presentación Avance de Resultados: Ligia Morend, Carolina Fredes, Facultad de
Agronomía. Noviembre 2002

Presentación: Marcos Alexis Flores García, Marzo 2005

Presentación Ximena Polanco, Laboratorio Ximena Polanco, Marzo 2005

Tomillo

Rendimientos

- Rendimientos de aceite esencial: 1,25%
- 48% de timol/carvacrol
- Superior al mínimo aceptado por la Farmacopea Europea (Pharm. Eur.1997).

La familia *Lamiaceae*

- Albahaca *Ocimum basilicum*
- Orégano *Origanum vulgare*
- Romero *Rosmarinus officinalis*
- Salvia *Salvia officinalis*
- Tomillo *Thymus vulgare*

La familia *Lamiaceae*

- Existen numerosas especies vegetales medicinales y aromáticas a las que se les atribuye propiedades antioxidantes, dentro de las cuales la familia *Lamiaceae* ha sido la más ampliamente difundida.

(Moure 2002)

- Los extractos de salvia y romero descritos en investigaciones iniciales fueron los de mayor actividad antioxidante. En general, los extractos alcohólicos y etéricos obtenidos de materia fresca vegetal son menos activos que las especias propiamente tales sin procesamiento químico.

(Chipault *et al.* 1956)

Lamiaceae y actividad antimicrobiana

- Los extractos de especias son un grupo heterogéneo de mezclas complejas de sustancias orgánicas cuya calidad y cantidad varía de acuerdo al estado de desarrollo de la planta de donde provienen, las condiciones ecológicas de crecimiento y otros factores relacionados a su producción, como el uso de diferentes solventes y temperaturas de extracción.

(Dube *et al.* 1988; Panizzi *et al.* 1993)

- Aceites esenciales actividad sobre bacterias patogénicas.

Lamiaceae y actividad antioxidante

- Los compuestos con propiedades antioxidantes corresponden principalmente a compuestos fenólicos asociados a ciertas familias botánicas, por ejemplo, el ácido rosmarínico es un componente común de familias de plantas superiores como *Lamiaceae*, cuya ruta de biosíntesis comienza con los aminoácidos fenilalanina y tirosina.

(Peterson, 2000)

- El ácido carnósico es conocido por su alta actividad antioxidante mayor a la del carnosol y rosmanol y que es común en especies como la salvia y el romero.

(Masuda *et al.* 2001)

Romero y sus antioxidantes

- Los compuestos fenólicos están representados por a lo menos 12 flavonoides con agliconas metiladas, entre ellas diosmina, ácido rosmarínico y ácido cafeico.
- Diterpenos tricíclicos como rosmaridifenol, carnosol, rosmanol, rosmadial y rosmarisina.
- Rosmaridifenol en concentraciones de 0,02% presenta una actividad similar al BHT en igual concentración en algunos sustratos ricos en grasa. El ácido carnósico y ácido

rosmarínico se han descrito como los componentes con mayor actividad antioxidante en romero, donde este último presenta una actividad comparable a la del ácido cafeico. (Schuler, 1990)

Tomillo como antiséptico

- La actividad antiséptica de la esencia de tomillo está dada fundamentalmente por sus compuestos fenólicos timol y carvacrol, demostrando propiedades antibacterianas y antifúngicas. Actúa tanto sobre Gram + como Gram - a nivel de membrana bacteriana, utilizándose ampliamente como antiséptico de vías respiratorias y vías urinarias. (Cañigüeral, 2000)

Formas de utilización

- Hierba fresca
- Hierba seca
- Aceite esencial
- Extracto seco

Objetivos de la investigación

Primera etapa

- Caracterizar y obtener los componentes químicos (principios activos) con potencial capacidad antiséptica en tomillo (*Thymus vulgaris*) y antioxidante en romero (*Rosmarinus officinalis*).
- Evaluar el uso potencial de tomillo (*Thymus vulgaris*) y romero (*Rosmarinus officinalis*) como antiséptico y antioxidante en la postcosecha y conservación de productos hortofrutícolas de cuarta gamma (mínimamente procesados).
- Realizar un Estudio de Mercado de Situación y Proyecciones de productos naturales antisépticos y antioxidantes a nivel mundial.

Objetivos de la investigación

Segunda etapa

- Obtener una materia prima estandarizada de romero.
- Evaluar el efecto antioxidante de un extracto seco de romero obtenido en invierno y verano sobre el enranciamiento de productos ricos en grasas.

Ubicación geográfica

- Terrenos experimentales Estación Experimental La Palma, Laboratorio de Extracción y Laboratorio de Poscosecha Facultad de Agronomía Pontificia Universidad Católica de Valparaíso
- Laboratorio Química Analítica Universidad Técnica Federico Santa María
- Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas Universidad de Chile
- Laboratorio Ximena Polanco

Figura 1. Variaciones de compuestos antioxidantes en materia seca de romero (selección Limache) durante el 2001

Figura 1. Variación de compuestos antioxidantes en materia seca de romero (selección Limache)

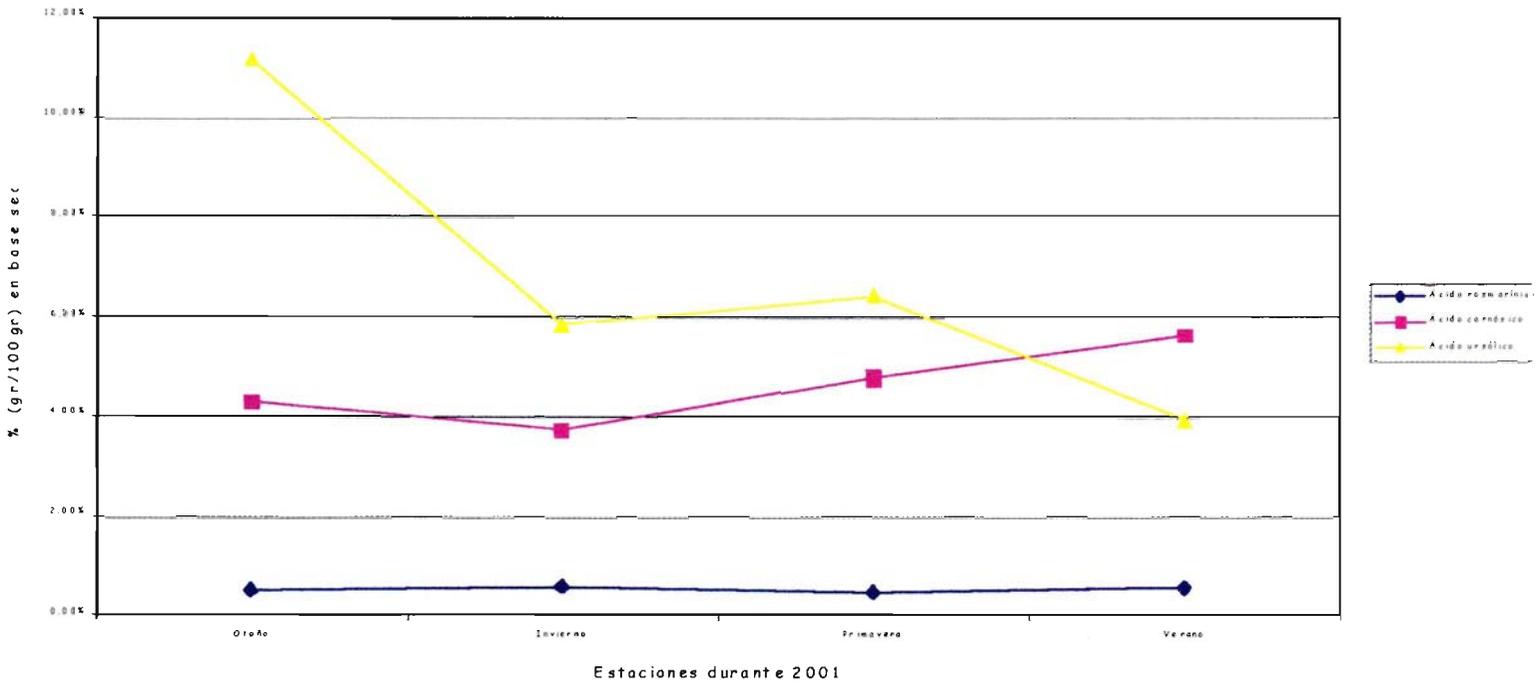


Figura 2. Variaciones de compuestos antioxidantes en aceite esencial de romero en follaje y plena floración

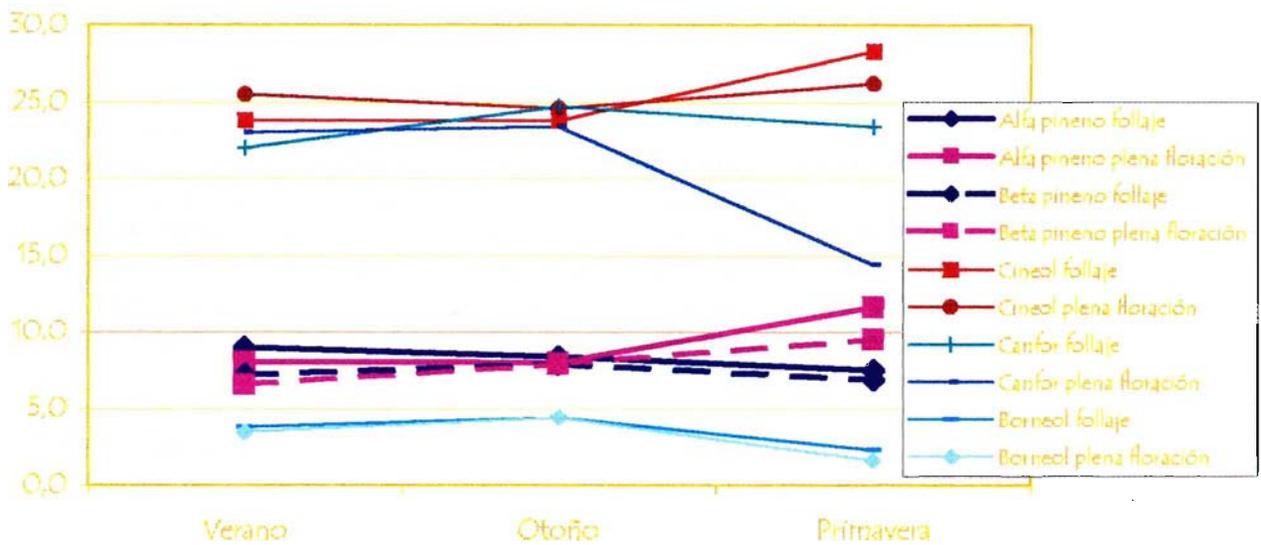
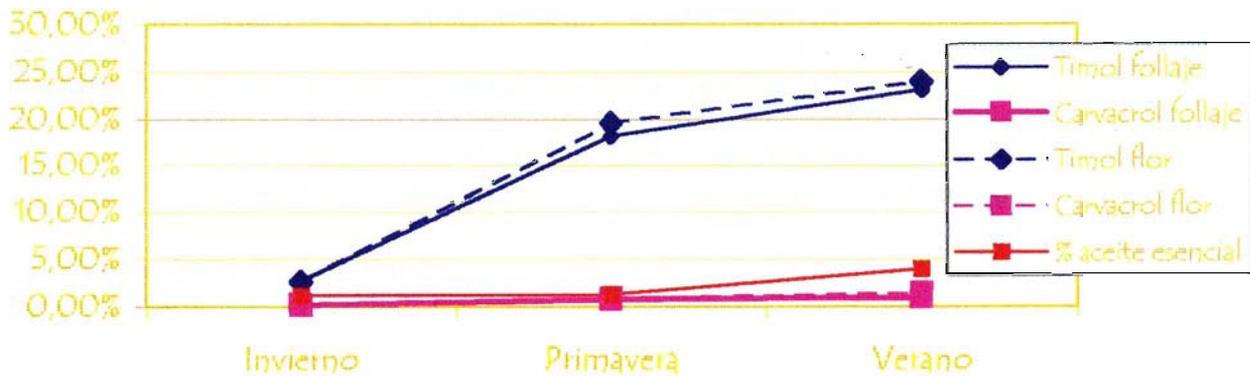


Figura 3. Variaciones de compuestos antimicrobianos en aceite esencial de tomillo durante la época de floración



Resultados de la investigación

Primera etapa

- Caracterizar y obtener los componentes químicos (principios activos) con potencial capacidad antiséptica en tomillo (*Thymus vulgaris*) y antioxidante en romero (*Rosmarinus officinalis*).
- Los principales compuestos antioxidantes en romero se encuentran en la materia seca durante todo el año, lo que permitiría realizar cosechas escalonadas.

Resultados de la investigación

Primera etapa

- Evaluar el uso potencial de tomillo (*Thymus vulgaris*) y romero (*Rosmarinus officinalis*) como antiséptico y antioxidante en la postcosecha y conservación de productos hortofrutícolas de cuarta gamma (mínimamente procesados).
- Los resultados de los ensayos en espárragos y en radicchios indicaron en términos generales, que el efecto de la aplicación de aceite esencial de tomillo en solución es comparable a la utilización de tratamientos basados en hipoclorito de sodio.

Resultados de la investigación

Primera etapa

- Evaluar el uso potencial de tomillo (*Thymus vulgaris*) y romero (*Rosmarinus officinalis*) como antiséptico y antioxidante en la postcosecha y conservación de productos hortofrutícolas de cuarta gamma (mínimamente procesados).
- No se encontraron efectos significativos con relación a los testigos utilizados en las investigaciones realizadas con materia fresca de romero sobre puré de palta. El rol antioxidante del romero no estaría relacionado al pardeamiento enzimático.

Resultados de la investigación

Primera etapa

- Realizar un Estudio de Mercado de Situación y Proyecciones de productos naturales antisépticos y antioxidantes a nivel mundial.
- Empresas demandantes de antioxidantes
- Forma de adquisición
- Conocimiento de antioxidantes naturales
- Uso de antioxidantes naturales
- Interés en este tipo de productos

Resultados de la investigación

Segunda etapa

Obtener una materia prima estandarizada de romero



Laboratorio Ximena Polanco

Evaluar el efecto antioxidante de un extracto seco de romero obtenido en invierno y verano sobre el enranciamiento de productos ricos en grasas



Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas
Memoria para optar al título de Ingeniero en Alimentos

Resultados de la investigación

Segunda etapa

- Obtener una materia prima estandarizada de romero

Características del extracto seco:

Polvo seco, amarillo, sin grumos, a granel, homogéneo y aromático

Adición de maltodextrina

Análisis microbiológico cumple con las especificaciones de calidad

Dosis Letal 50: extracto inocuo (8,33 gr/kg)

Resultados de la investigación

Segunda etapa

- Obtener una materia prima estandarizada de romero

Contenidos de compuestos antioxidantes

Extracto seco puro: 5-10 °C

Período de 26 meses

Ácido carnósico: 9% a 6,1% (dism. 32,2%)

Ácido rosmarínico: 4,2% a 3,4% (dism. 19%)

Ácido ursólico: presente

Resultados de la investigación

Segunda etapa

- Obtener una materia prima estandarizada de romero

Contenidos de compuestos antioxidantes

Extracto seco/maltodextrina: t° ambiental

Período de 15 meses

Ácido carnósico: 3,8 % a 2,4 % (dism. 36 %)

Ácido rosmarínico: 2,1 % a 1,8 % (dism. 14,3 %)

Ácido ursólico: presente

Usos medicinales de las especies estudiadas

- *Thymus officinalis*: actividad
- Antiespasmódica y expectorante: vías respiratorias.
- (timol, carvacrol, flavonas metoxiladas)
- Antiséptica: antibacteriana, antimicótica
- (vías respiratorias, cavidad bucofaríngea, vías urinarias, lavado de heridas)
- Antiinflamatoria (dolores musculares y osteo articulares)
- Antioxidante, Regulador hormonal
- (Cañigüeral, S. 2000)

Usos medicinales de las especies estudiadas

- *Rosmarinus officinalis*: actividad
- Antitumorales, anticancerígenas (Jones, C. 1998, Ho et al. 1994)
- Anti-lipoperoxidante, hepatoprotectora (Cirrosis hepática (Yahuaca, et al, 2001)
- Antibacteriana y antifúngica
- Acción espasmolítica (aceite esencial)
- Antiinflamatoria, Antioxidante, Protector capilar



Presentación Avance de Resultados

Proyecto FIA C-00-1-A-071

"Obtención y caracterización de aceites esenciales, extracto seco y materia seca de *Rosmarinus officinalis* y *Thymus vulgaris*, provenientes de cultivos orgánicos y sus aplicaciones en postcosecha e industrialización de alimentos"

Ligia Morend

Carolina Fredes

Facultada de Agronomía. Noviembre 2002

Objetivos Generales del Proyecto

Caracterizar y obtener los componentes químicos (principios activos) con potencial capacidad antiséptica en tomillo (*Thymus vulgaris*) y antioxidante en romero (*Rosmarinus officinalis*)

· Evaluar el uso potencial de tomillo (*Thymus vulgaris*) y romero (*Rosmarinus officinalis*) como antiséptico y antioxidante en la postcosecha y conservación de productos hortofrutícolas de cuarta gamma (mínimamente procesados)

Realizar un Estudio de Mercado de Situación y Proyecciones de productos naturales antisépticos y antioxidantes a nivel mundial

Características del clon de romero

• Rendimientos de aceite esencial

3,7-4,2 % sobre peso seco de hojas

(28 % de cineol, 32 % de camfor, 1,2 % de borneol) obtenido mediante arrastre con vapor.

Características del clon de tomillo

• Rendimientos de aceite esencial

1,25 % sobre hoja seca

(48 % de timol/carvacrol).

Propagación de tomillo

Uso de estacas herbáceas y semileñosas enraizadas bajo 2 concentraciones de IBA (400 y 800 ppm) en otoño y primavera.

Problemas enfrentados

Bajo enraizamiento en los tratamientos de otoño

Resultados

Tomillo:

Cosecha en verano otoño

Cosecha de invierno

Cosecha de primavera

Estados fenológicos: follaje y floración

Aceite esencial: (%) sobre materia seca contenidos de timol y carvacrol

Extracción mediante arrastre con vapor de agua

Tomillo Cosecha Verano

Aceite esencial: 1,35 % obtenido de hierba seca con un 14 % de humedad

- Estado follaje:
 - Timol: 23,3 % Carvacrol: 1 %
- Estado floración:
 - Timol: 24 % Carvacrol: 1,43 %

Tomillo Cosecha Invierno

Aceite esencial: 1,18 % obtenido de hierba seca con un 23 % de humedad

- Estado follaje:
 - Timol: 2,7 % Carvacrol: 0,13 %
- Estado floración:
 - Timol: 2,63 % Carvacrol: 0,2 %

Tomillo Verano-Invierno

- Drástica disminución de contenidos de timol y carvacrol en invierno (julio)
- El % de aceite esencial se mantiene similar
- En ambas épocas el compuesto predominante fue un tipo de terpineol aumentando su tenor en invierno
- El período de cosecha se caracterizó por bajas temperaturas y precipitaciones

Tomillo: Conclusiones Parciales

- ♦ De acuerdo a los contenidos de timol (verano) y el alto tenor del compuesto tipo terpineol el clon seleccionado no es del Quimiotipo Timol
- ♦ Tomillos con niveles sobre 20 % de timol en su aceite esencial son aceptados como plantas aromatizantes
- ♦ Se puede aumentar el nivel de timol en el aceite esencial fraccionando la extracción pero esto eleva el costo del producto

Tomillo: Conclusiones parciales

- ♦ Las mediciones de primavera podrían aclarar el comportamiento de los aceites esenciales
- ♦ El nivel de timol de 23 a 24 % le da características antisépticas al aceite esencial, sin embargo requiere sobre el 45 % para mejorar calidad y precio

Resultados

- ◆ Romero:
 - Caracterización de antioxidantes
 - Ácido rosmarínico
 - Ácido carnósico
 - Ácido ursólico
 - Materia fresca y Materia seca
 - Otoño, Invierno, Primavera, Verano

Romero: antioxidantes en las 4 estaciones

- ◆ Ácido rosmarínico
 - Se mantiene en un rango estable (0,49 a 1,3 %)
- ◆ Ácido carnósico
 - Aumenta hacia primavera y verano (5,6 %) y su mínimo rendimiento es en invierno (2,0 %)
- ◆ Ácido ursólico
 - Comportamiento irregular con un mínimo en verano (3,7 %) y alzas en primavera y otoño (11- 13 %)

Antioxidantes Romero

Romero: Conclusiones parciales

- ◆ Los 3 compuestos están presentes tanto en hierba fresca como seca
- ◆ El ácido rosmarínico y el ácido ursólico en menor proporción son más sensibles que el ácido carnósico al proceso de secado de la hierba
- ◆ Los contenidos en la Selección de romero están en los rangos esperados

Romero : Conclusiones parciales

- ◆ En el período invernal se observa una menor producción de ácido carnósico pero mantiene los niveles de ácido rosmarínico
- ◆ Para esta selección los resultados dan una idea de la época de cosecha para favorecer los contenidos de alguno de los antioxidantes.

Romero: Caracterización del aceite esencial

- ◆ Época de cosecha según floración
 - Verano
 - Otoño
 - Primavera
- ◆ Estado:
 - Follaje
 - Inicios de floración
 - Plena floración

Romero: Caracterización del aceite esencial

- ◆ Compuestos analizados:
 - Cineol
 - Canfor
 - Alfa-pineno
 - Beta-pineno
 - Borneol
- ◆ Contenido de aceite esencial: %

Resultados parciales

- ◆ El contenido de aceite esencial fluctuó de 2,7 a 3,4 % sobre hierba seca (12 % humedad)
- ◆ Los principales componentes del aceite esencial son cineol y canfor (sobre un 45 %)
- ◆ Alfa y beta-pineno componen alrededor de un 16 % de la esencia
- ◆ El borneol se mantiene cerca del 4%

Aceite esencial de romero: conclusiones parciales

- ◆ Los componentes se mantienen en una proporción estable (verano, otoño)
- ◆ El canfor (21 a 26 %) se conoce por sus propiedades antisépticas, nematocidas y funguicidas

Extracto Seco de Romero

- ◆ Verificación del proceso de obtención del residuo sólido (otoño)
- ◆ Obtención de extracto seco mediante Spray Dry (invierno)
 - Hierba fresca: follaje
- ◆ Mediciones de contenidos de antioxidantes:
 - 1º fracción: 0, 7, 14, 28 días
 - 2º fracción: 12 semanas

Resultados Cosecha Invierno

Extracto Seco de Romero g/100g (1º Fracción)

Tiempo	Ácido carnósico	Ácido rosmarínico	Ácido ursólico
días	%	%	%
0	N/D	4,1	8,8
7		4,5	
14		4,4	
28		4,6	8,4

Resultados Cosecha Invierno

Extracto Seco de Romero g/100g (2º Fracción)

- ◆ Muestra almacenada en envase cerrado a 5 °C, a la sombra

Tiempo semanas	Ácido carnósico %	Ácido Rosmarínico %	Ácido ursólico %
12	4,3	4,2	39,7

Resultados parciales: Extracto Seco de Romero

- ◆ La primera fracción de Extracto seco presenta:
 - Ácido rosmarínico, el cual se mantiene estable en el tiempo evaluado
 - Ácido ursólico, que también se mantiene estable en el tiempo evaluado
 - El ácido carnósico no es detectado a nivel comparable al patrón químico

Resultados parciales: Extracto Seco de Romero

- ◆ La segunda fracción de Extracto seco presenta, a las 12 semanas, los tres antioxidantes
- ◆ Se mantiene el tenor de Ácido rosmarínico (4,3%) y el Ácido ursólico alcanza niveles muy altos (39,7%)
- ◆ El ácido carnósico se detecta en esta fracción a un nivel similar al ácido rosmarínico (4,3%)

Extracto Seco de Romero: Conclusiones parciales

- ◆ Un extracto de romero analizado (antioxidantes en propilenglicol) contiene la 3ª parte de ácido carnósico y de ácido ursólico contenido en el extracto seco.
- ◆ De acuerdo a la composición del extracto seco, debería presentar las características antioxidantes de la materia fresca o seca, o de productos comerciales.



“ Evaluación de Extracto de Romero Orgánico (*Rosmarinus officinalis*) Producido en Chile Como Antioxidante Natural Aplicado en Bases Grasas Animales y Vegetales”

Presentación: Marcos Alexis Flores García

Prof. Patrocinante: Prof. Lilia Masson

Directores de tesis: Prof. Paz Robert

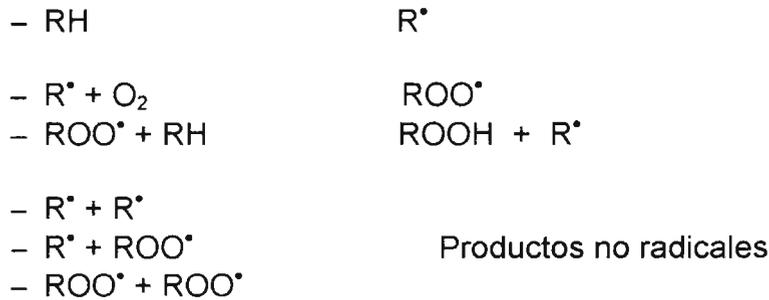
Co – Director de tesis: Ing. Agrónomo Carolina Fredes

Torre Mayor, Santiago, 30 de marzo de 2005

Introducción

- ∨ Los ácidos grasos no saturados y las estructuras donde estos participan sufren oxidaciones.
- ∨ Los productos primarios de la oxidación lipídica son los hidroperóxidos lipídicos.
- ∨ La autooxidación es la reacción con oxígeno molecular y necesita de catalizadores para su inicio.
- ∨ La autooxidación cuenta de tres etapas: iniciación, propagación y término.

Secuencia de las Reacciones de Autooxidación;



Definición general de antioxidantes: un antioxidante es toda sustancia o método que retrasa o previene el deterioro, daño o destrucción de los lípidos, provocados por una oxidación.

Antioxidantes - Sintéticos
- Naturales

Toxicidad de los antioxidantes sintéticos v/s antioxidantes naturales.

El Extracto de romero y su composición.

La calidad del extracto de romero.

Objetivo general

- Evaluar el efecto antioxidante de un extracto de romero orgánico (*Rosmarinus officinalis*) producido en Chile sobre bases grasas animales (manteca de cerdo, grasa de vacuno, aceite de salmón y aceite de emú) y vegetal (aceite de rosa mosqueta), comparado con un extracto de romero comercial.

Objetivos específicos

- Determinar la estabilidad oxidativa medida por Rancimat.
- Identificar y cuantificar los polifenoles en los extractos de romero chileno y comercial.
- Cuantificar los fenoles totales en los extractos de romero chileno y comercial.

Materiales

Extracto de romero Chileno (R)

El extracto de romero comercial (G)

El estándar de ácido carnósico se obtuvo en SIGMA.

Las bases grasas animales sin antioxidante, fueron donadas por la empresa Grasas Comerciales GRASCO S.A.

Las bases grasas vegetales sin antioxidante, fueron donadas por la empresa Aceites y Productos Naturales T&W Ltda.

Metodología

1° Serie de materias grasas vegetales y animales (n=3).

Grasa de vacuno

Manteca de cerdo

Aceite de Emú

Aceite de salmón

Aceite de rosa mosqueta

2° Se determinó la cantidad de fenoles totales mediante al método de Folin-Ciocalteu. Metodología propuesta por Bordeu E. y Scarpa J. (2000).

3° Se caracterizó los extractos mediante HPLC según el estándar de ácido carnósico(CA). Metodología propuesta por Cuvelier M. y cols. (1996).

Realización de la curva de calibración de C.A (n=3).

4° Se determinó la estabilidad oxidativa a las distintas bases grasas. Método oficial Cd 12b-92 (A.O.C.S., 1993).

5° Se realizó un análisis de varianza para un modelo de clasificación simple en los resultados obtenidos en el estudio de estabilidad oxidativa, según el programa estadístico Statgraphics 4.0 Plus .

Resultados

Perfil de los principales ácidos grasos, de las materias grasas estudiadas (porcentaje de ésteres metílicos).

Fenoles totales de los extractos de romero (G) y (R), determinados por el método de Folin-Ciocalteu.

Representación en porcentaje de los polifenoles del extracto R.

Tiempo de Inducción de las materias grasas estudiadas sin y con la adición de 0,1% de extracto de Romero Chileno (R) y comercial (G).

Tiempo de Inducción de las materias grasas estudiadas sin y con la adición de 0,2% de extracto de Romero Chileno (R) y comercial (G).

Efecto del extracto de Romero (G) y (R) en el Tiempo de inducción de las materias grasas estudiadas .

Efecto de la concentración de extracto de romero sobre el Tiempo de Inducción de las materias grasas estudiadas.

Tiempo de inducción, para las materias grasas estudiadas adicionadas de extracto de Romero (G) y (R) en igual concentración de polifenoles totales

	Tiempo de Inducción (h)	
	G	R
v Materia Grasa		
v Manteca de Cerdo	6,7 ± 0,5	4,1 ± 03
v Aceite de Emú	9,3 ± 1,0	3,9 ± 0,1
v Grasa de Vacuno	7,6 ± 0,5	5,7 ± 0,3
v Aceite de Salmón	< 0,5	< 0,5
v Aceite de Rosa Mosqueta	3,8 ± 0,1	2,8 ± 0,1

Conclusiones

El extracto de Romero Chileno presenta actividad antioxidante frente a la oxidación de las bases grasas estudiadas.

El extracto de Romero Comercial también presenta actividad antioxidante frente a la oxidación de las bases grasas estudiadas.

El extracto de Romero chileno posee una concentración alrededor de siete veces mayor al comercial con respecto a los fenoles totales, y además posee distinta composición en polifenoles, siendo su principal componente el ácido rosmarínico

El efecto antioxidante de los extractos de romero es mayor en las materias grasas más saturadas y aumenta con la concentración del extracto.

La actividad antioxidante de los extractos de romero sobre la oxidación de una materia grasa depende del contenido y tipo de polifenoles presentes en el extracto de romero.



Obtención y caracterización de aceites esenciales, extracto seco y materia seca de *Rosmarinus officinalis* y *Thymus vulgaris*, provenientes de cultivos orgánicos y sus aplicaciones en postcosecha e industrialización de alimentos
Proyecto FIA C-00-1-A-071

Presentación Ximena Polanco
Laboratorio Ximena Polanco

CHARLA COMENTARIOS Y ALCANCES FUTUROS
Torre Mayor, Santiago, 30 de marzo de 2005

INTRODUCCION

- ! Necesidad de preservar los alimentos, cosméticos y otros
- ! Inconvenientes de los preservantes sintéticos
- ! Deseo del consumidor por lo natural-orgánico
- ! Gran cantidad de investigación seria de plantas ricas en antioxidantes

INTRODUCCIÓN

- ! Disposición de la Industria a participar del proyecto- fabricación extracto
- ! Disposición de la Industria alimentaria y cosmética- probar y ensayar el producto obtenido:
"Proyecto con aplicabilidad real, siendo necesario mayor investigación sobre su capacidad antilipoperoxidante, y finalmente su escalamiento industrial"

RESULTADOS

- El ensayo piloto permitió obtener:
 - ! Extracto seco de muy buena calidadcaracterísticas físicas-organolépticas
 - ! Estandarización del proceso-rendimiento droga:solvente, droga:extracto seco
 - ! Buen contenido de p.a. antioxidantes: ácidos carnósico, rosmarínico y ursólico
 - ! Características reológicas-dispersión solubilidad muy buenas

PRODUCTOS COMERCIALIZADOS

- ! ROMOX-ARL: 60 cápsulas Suplemento antioxidante
- ! ROMOX-ARL crema al 3%
- ! ROMOX-ARL loción al 3%
- ! MERMELADAS ANTIOXIDANTES
- ! BOMBONES ANTIOXIDANTES

ANTIOXIDANTES, PRESERVANTES NATURALES, ALIMENTOS FUNCIONALES

INTRODUCCION

La degradación química de los alimentos es:

- ! Proceso espontáneo sin la participación de microorganismos, deteriorando las propiedades físicas y organolépticas del alimento.
- ! Proceso, principalmente, oxidativo inducido por efecto de la luz, el calor y la presencia de trazas de algunos iones metálicos de transición.

INTRODUCCIÓN

- ! Los extractos vegetales-utilizados comúnmente con fines terapéuticos
- ! Naturaleza-química variada y compleja: polifenoles, isoprenoides, compuestos tiólicos, ácido ascórbico y polisacáridos - capacidad antioxidante característica
- ! Estos compuestos, además de su rol preservante del alimento, pueden actuar como antioxidantes biológicos en el consumidor, a través de diferentes mecanismos.

INTRODUCCION

- ! Existe, a nivel mundial, una fuerte tendencia a prevenir enfermedades por medio de productos naturales con efectividad demostrada científicamente
- ! Preocupación por la salud integral a edades más tempranas
- ! Consumidores informados- mayor conocimiento y más exigentes

INTRODUCCION

- ! Respeto por lo natural - cada vez mayor
- ! Aumento y calidad de la investigación del uso de plantas sobre beneficios para la salud
- ! Desarrollo de productos con nuevas asociaciones de alimentos y Extractos de plantas
- ! Desarrollo de técnicas analíticas modernas confiables-rápidas-seguras

OBJETIVOS

- ! Promover el uso de antioxidantes-preservantes de origen natural-preservación de alimentos
- ! Relacionar esta actividad "farmacológica" con la Industria alimentaria, específicamente con los alimentos funcionales / nutraceuticos
- ! Desarrollar productos innovadores uniendo capacidades técnico-económicas, resaltando los atributos "natural", "orgánico" y "efectivo"

ALGUNAS DEFINICIONES

- ! ANTIOXIDANTES: según la FDA, "son sustancias usadas para preservar los alimentos por retardar el deterioro, rancidez o decoloración debido a la oxidación"
- ! USO: el uso de los antioxidantes está presente, no sólo en los alimentos sino también en los cosméticos y el área farmacéutica, con la finalidad u objetivo de prevenir de modificaciones indeseables causadas por la degradación oxidativa

CLASIFICACIÓN ANTIOXIDANTES

Según sea el origen se clasifican en:

! Naturales: de consumo directo: frutas, verduras y vegetales

! Análogos a naturales - obtenidos por síntesis química o biológica-purificados

! Artificiales: obtenidos por síntesis química

CLASIFICACIÓN....

! Análogos a naturales: - Beta carotenos, tocoferoles, ácido cítrico, vit. C, entre otros

! Artificiales:

- BHT butylato hydroxitolueno

- BHA butylated hydroxyanisole

FUENTES DE ANTIOXIDANTES

! Naturales: frutas y verduras-tejido externo de las frutas están los compuestos responsable de la actividad

! Flavonoides: polifenoles

! Vitaminas: A, C, E,

! Polisacáridos

! Aceites esenciales

! Pigmentos (licopeno)

PLANTAS CON VALOR ANTIOXIDANTE

Practicamente todas las plantas contienen p.a. antioxidantes, los que cumplen variadas funciones:

! protección de la radiación UV

! mantención de su estructura

! para atracción-polinización

! defensa, señal, etc.

PLANTAS MAS ESTUDIADAS

En relación a su actividad antioxidante preservante:

! *Rosmarinum officinalis*-Romero

! *Thymus vulgaris*-Tomillo

! *Origanum vulgare*-Oregano

! *Bluddleja globosa*-Matico

EXTRACTO DE ROMERO VERSUS BHA

	TI (días)	IA
Control	4,5	1
BHA 0,01%	7	1,56
E1 0,01%	8	1,78
E1 0,02%	7,5	1,67
E2 0,01%	9,4	2,1

(Aceite comestible libre AOX 94% soya 6% maíz 60°C)

Antioxidantes: Tecnología de Extracción y Aplicación. M.Sc.Andrea Ruiz O. UCV

Extracto de Matico versus BHT purificado(Sigma)

Los primeros experimentos realizados en la U de Chile, con Extracto hidroalcoholico de Matico(Budleja globosa) resultó ser mejor antilipoperoxidante, en filetes de salmón incubados a 37°C, que el BHT purificado(Sigma).

La investigación continua y se esperan nuevos resultados para Marzo.

ANTIOXIDANTES NATURALES

En el mercado ya existen algunos antioxidantes naturales:

! En base a romero:

Bordantix (m.r.)powder

Guardian

! En base a orégano:

Origanox

ALIMENTOS FUNCIONALES

! Definición: "alimentos funcionales son alimentos que proveen beneficios a la salud por sobre el aporte nutricional básico"(American Dietetic Association, 1999)

! Nutracéutico: " cualquier sustancia que pueda ser considerada alimento y que provee beneficios médicos o saludables, inclusive prevención o tratamiento de una enfermedad"(Pascal y Collet-Ribbing, 1998)

EJEMPLOS DE ALIMENTOS FUNCIONALES

! PREMIUM -Yogurt con aloe vera de reciente aparición

! MIELITO(m.r.)- miel con extractos vegetales inmuno estimulantes

! MERMELADAS con extractos vegetales antioxidantes- mosqueta con Extracto de Romero: aporta sustancias antioxidantes y no requiere de preservantes

! BOMBONES antioxidantes con Ex. de romero

ALCANCES PARA COMENTAR

" Los alimentos funcionales tienen más que ver con marketing que con salud"
(Marion Nestlé, Prof. Nutrición de la Universidad de N.York y Asesora)

CONCLUSION

_ El estudio de plantas como fuentes de principios activos con potencial efecto antioxidante abre una importante alternativa para la industria alimentaria y cosmética en el campo de la preservación

_ Debido a esto hay un fuerte interés en el ámbito mundial en investigar y desarrollar nuevas fuentes naturales de antioxidantes.

MUCHAS GRACIAS

LABORATORIOS XIMENA POLANCO

....un compromiso de seriedad.....

Investigación de la Facultad de Agronomía de la PUCV comprobó propiedades del romero y el tomillo

Estudio abre interesante oportunidad de negocios debido a sus múltiples usos

Desde los tiempos de la Colonia, en nuestro país se conocen las hierbas por su uso como condimento y como plantas medicinales. Por eso, investigadores de la Facultad de Agronomía de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso (PUCV) comprobaron las notables cualidades antioxidantes y antibacterianas del romero (*Rosmarinus officinalis*) y el tomillo (*Thymus vulgaris*), en forma de aceites esenciales y extractos secos.

Todo comenzó unos diez años atrás, cuando se realizaron estudios sobre plantas medicinales y su producción. Un tiempo después, los investigadores de la PUCV ganaron un proyecto de la Fundación para la Innovación Agrícola, Fia, sobre el mismo tema, donde trabajaron con 10 especies.

"Algunas mostraron extraordinarias propiedades. Es el caso del romero, que tenía componentes más ricos de lo que se pensaba. Y el tomillo, que también tenía excelente rendimiento y bastantes usos. Las demás, tenían utilidades muy normales", recordó la ingeniero agrónomo Gabriela Verdugo,



El romero se lleva casi todos los aplausos. En la actualidad, se está vendiendo en cápsulas y cremas.

directora del equipo investigador. "Hasta ahí, todo muy interesante, pero no habíamos dado con un uso industrial para poder despertar el interés de los agricultores por producir estas plantas", comentó Gabriela Verdugo. Por eso, se decidió darle mayor elaboración al producto, un mayor valor agregado, trabajo que quedó a cargo de las ingenieras agrónomas Ligia Morend y Carolina Fredes, además de Gabriela Verdugo, quien se ocupó de las labores administrativas del proyecto.

Asimismo, se contactó a otras instituciones, como el Laboratorio de Química Analítica de la Universidad Técnica Federico Santa María, la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Chile, además del Laboratorio Ximena Polanco.

Producto estrella

El romero, arbusto originario del Mediterráneo, se llevó la mayor cantidad de aplausos. Los investigadores obtuvieron una materia prima estandarizada, un polvo amarillo seco, homogéneo y aromático, que cumplió con todos los estándares de calidad que permiten su consumo humano.

Además, la investigación logró determinar que, bajo condiciones de laboratorio, las propiedades del extracto seco de romero perduran hasta por 27 meses. Se verificó, por ejemplo, la capacidad antioxidante del romero chileno sobre bases grasas, como son la manteca de cerdo, aceite de emú y grasa de vacuno.

Cabe señalar que en la Provincia de Quillota el romero crece durante toda la temporada, por lo que las variaciones de los principales compuestos del aceite esencial, a través de las estaciones son mínimas, por lo que el productor estaría en condiciones de cosechar todo el año. Esto tiene muy buenas implicancias económicas, pues puede transformar al romero en una alternativa bastante atractiva para los inversionistas.

Antioxidante orgánico

Pero el tomillo no se quedó atrás. Se trata de una hierba que se debe cosechar, exclusivamente, durante la época de floración, en primavera y verano.

Gabriela Verdugo cuenta que se hicieron pruebas de la capacidad antibacteriana del tomillo en espárragos, pues los productores antes de exportar los tratan con cloro. "Esta práctica está siendo cuestionada, porque algunos estudios sugieren que el cloro se acumula en los manipuladores de alimentos que realizan labores de post cosecha, provocando problemas de salud", explicó la experta en floricultura. En el laboratorio, el aceite esencial de tomillo tuvo el mismo efecto que el cloro, por lo que su aplicación puede ser una muy buena noticia para los empresarios que están apostando por los cultivos y procesos orgánicos.

A pesar de que los chilenos, por lo general, consumen pocas hierbas frescas y secas, Verdugo ve un prometedor panorama en "sustituir antioxidantes sintéticos en la industria, pues están siendo seriamente cuestionados. De hecho, la primera institución receptiva fue Nestlé, para su línea de productos para niños".

Tomillo

A nivel mundial, el tomillo se emplea en tónicos o cápsulas para fortalecer el sistema inmunitario, combatir la bronquitis, tos y asma, y en inhaladores antisépticos. Algunos los usan como colutorios para gargarismos e inflamación de encías, incluso para quemaduras solares. También contienen tomillo algunos tratamientos de aromaterapia.

Varios productos alimenticios contienen *Thymus vulgaris*, tales como sopas deshidratadas, salsa y aderezos, conservas, aceites, vinagres, sales aromáticas, panes, alimentos preparados, pizzas, quesos, embutidos, miel de tomillo, mantequilla y cremas de hierbas.

Romero

Este arbusto se emplea como aceite esencial para aromaterapia, tónicos para el sistema nervioso, circulatorio y cerebral (contra la fatiga y dolor de cabeza). También en cremas y lociones antirreumáticas, contra dolores musculares y artritis, cremas anticelulitis, champús y acondicionadores de pelo, lociones y cremas rejuvenecedoras del cutis, aceites de belleza, loción capilar y anticasca, dentríficos, cremas de afeitar y bálsamos para después del afeitado e inhaladores antisépticos. En cuanto a productos alimenticios, el *Rosmarinus officinalis* se utiliza como base de licor y vino, sopas deshidratadas, salsas, sales aromáticas, aceites, vinagres, quesos, papas fritas, mantequilla y cremas de hierbas.



El tomillo es de fácil y barato cultivo, además de tener cualidades antibacterianas.

➤ **Los secretos de dos típicas hierbas (18/04/2005)**

➤ **Los primeros pasos de los vinos orgánicos (04/04/2005)**

➤ **Leche y limones: dos productos que conquistan mercados extranjeros (21/03/2005)**

➤ **Las pasas desplazan a la uva de mesa (07/03/2005)**

➤ **Duraznos son venta segura en todas las ferias libres del país (21/02/2005)**

➤ **Se disparó el precio de los porotos granados (07/02/2005)**

➤ **Baja producción eleva precios del choclo (17/01/2005)**

➤ **Un año notable para la carne (03/01/2005)**

➤ **El vino crece a pasos agigantados (27/12/2004)**

➤ **Novedosa campaña busca promover consumo de palta (15/11/2004)**

➤ **Feria libre de Macul dicta cátedra en superación (08/11/2004)**

➤ **Los secretos de la feria libre más cuica de Chile (25/10/2004)**

Romero y tomillo tienen múltiples usos
Los secretos de dos típicas hierbas

Lunes 18 de abril de 2005

Investigadores concluyeron que estas plantas son de gran utilidad para la salud de las personas y la preservación de alimentos.

Una larga historia es la que tienen el romero y el tomillo, dos plantas que tradicionalmente han sido señaladas como grandes aliados para la salud de las personas. La primera de ellas se cultiva en huertos y jardines del país desde los tiempos de la Colonia y ha formado parte de múltiples preparaciones y ungüentos curativos. El tomillo, que se cultiva en jardines y huertas especialmente de la zona sur, también se emplea en Chile hace siglos y de acuerdo a la sabiduría popular se recomienda para el estómago, para aliviar dolores de cabeza, en casos de reumatismo y también de gota.

¿Concuerda la ciencia con la sabiduría popular? La respuesta es sí, ya que un grupo de investigadores de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, con el respaldo de la Fundación para la Innovación Agraria, FIA, verificó que los extractos secos y aceites esenciales presentes en el romero y el tomillo poseen propiedades antioxidantes y antibacterianas, útiles para la salud humana. Sus virtudes curativas se pueden aplicar en cuadros como infecciones a la piel, enfermedades bacteriales, procesos de cicatrización o para disminuir la presencia de microorganismos dañinos.

Durante cuatro años los investigadores de la Facultad de Agronomía de la PUCV en Quillota, realizaron distintas pruebas que arrojaron que ambas plantas no sólo son un gran respaldo por dichas aplicaciones medicinales sino también por sus usos en la industria alimentaria. El proyecto verificó, por ejemplo, que el romero es útil en la preservación de alimentos y que el tomillo sobresale por su poder antibacteriano, útil



Las virtudes curativas del romero y del tomillo se pueden aplicar en cuadros como infecciones a la piel o enfermedades bacteriales.



- Pymes al Día
- Mascotas
- Noticias
- Consumo
- Portada
- Su Negocio
- Personaje
- Entrevista
- Columnas
- Todo Agro

Suplementos

Primerafila
 Catalina Pulido: "Soy súper prejuiciosa"

Reportajes
 Patricio Torres: "Me encantaría actuar en una obra que no tenga ninguna risa"

Auto
 Honda Civic Híbrido, bajo consumo, menos ruido y mínimas emisiones

Mercado Mayorista
 Éxito rotundo del queso rallado

Transporte
 El positivo horizonte del mercado camionero

Encuesta

➤ **Frutillas y
frambuesas se
lucen en el
extranjero
(18/10/2004)**

➤ **La gran apuesta por
el queso
(18/10/2004)**

➤ **Cebollas, todavía
con altos precios
(04/10/2004)**

en la prevención del desarrollo de microorganismos.

En estos estudios se pudo comprobar la capacidad antioxidante del romero sobre bases grasas como la manteca de cerdo, aceite de emú y grasa de vacuno. Además, la investigación logró determinar que bajo condiciones de laboratorio las propiedades del extracto seco de romero perduran hasta por 27 meses, algo más de dos años. En este plano, una de las aplicaciones del romero podría ser en la industria alimentaria, donde las leyes internacionales promueven que se utilicen cada día menos antioxidantes sintéticos, por ejemplo, en los alimentos para niños.

De acuerdo a los especialistas, la importancia de la investigación radica en que estas especies son fuentes naturales de compuestos que pueden sustituir sustancias sintéticas de riesgo para la salud y empleadas con frecuencia en los productos comestibles.

La iniciativa contó con el apoyo de la Fundación para la Innovación Agraria, del Ministerio de Agricultura, debido al interés de la entidad por impulsar el desarrollo de productos con mayor valor agregado en el rubro de plantas medicinales y aromáticas.

¿Participaría usted en un reality show?

- Jamás. Ni aunque me amarren
- Feliz. Me encantaría
- Si es por dinero, sí
- ¿Qué es un reality?

Votar

- Resultados
- Otras encuestas

[Ir a Portada](#) [volver](#) [subir](#) [imprimir](#) [enviar por email](#)

ANEXO 7

Asistentes a Charla de Difusión Final

FACULTAD DE AGRONOMIA PUCV
FICHA PARTICIPANTES

Nº1

NOMBRE	Andrea
APELLIDO PATERNO	Ruiz
APELLIDO MATERNO	O'Reilly
RUT PERSONA NATURAL	
DIRECCION	Av. Brasil 2147 Valparaíso V Región
FONO-FAX	FONO 273657 FAX 273803
E-MAIL	aruiz@ucv.cl
Nombre de la organización, empresa o institución de donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor.	ESCUELA DE INGENIERIA – BIOQUIMICA PUCV
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor.	
CARGO O ACTIVIDAD	Docente Jefe Carrera Ingenieria de Ejecución en Bioprocesos.
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja.	

Nº2

NOMBRE	Pedro Saul
APELLIDO PATERNO	Novillo
APELLIDO MATERNO	Izquierdo
RUT PERSONA NATURAL	
DIRECCION	Pedro Polanco 69, La Ligua, V Región
FONO-FAX	33-711049 / 098272678
E-MAIL	pedronovillo@valleflora.com
Nombre de la organización, empresa o institución de donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor.	AGRICOLA VALLE FLORA LTDA.
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor.	78.782.350-5
CARGO O ACTIVIDAD	Gerente
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja.	Agrícola

Nº3

NOMBRE	María Antonieta
APELLIDO PATERNO	Reyes
APELLIDO MATERNO	Carreño
RUT PERSONA NATURAL	
DIRECCION	Avda. Santa Rosa 11610 Santiago / RM
FONO-FAX	2-7575123/5416687
E-MAIL	careyes@platina.inia.cl
Nombre de la organización, empresa o institución de donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor.	INSTITUTO DE INVESTIGACION AGROPECUARIA (INIA) LA PLATINA
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o	61.312.000-9

predio en caso de ser agricultor.	
CARGO O ACTIVIDAD	Investigadora
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja.	Agrícola

Nº 4

NOMBRE	Pamela
APELLIDO PATERNO	Estupiñán
APELLIDO MATERNO	Vera
RUT PERSONA NATURAL	
DIRECCION	Los Peules 065, Valdivia, X Región
FONO-FAX	091837476
E-MAIL	ptestupiñan@hotmail.com
Nombre de la organización, empresa o institución de donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor.	UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor.	
CARGO O ACTIVIDAD	ESTUDIANTE MAGISTER
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja.	Tiempo de vida útil de la carne de emú adicionado antioxidante natural.

Nº 5

NOMBRE	María José
APELLIDO PATERNO	Alonso
APELLIDO MATERNO	Aedo
RUT PERSONA NATURAL	
DIRECCION	Maroto 1213-B casa 1
FONO-FAX	09-3972606
E-MAIL	cotonitopop@hotmail.com
Nombre de la organización, empresa o institución de donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor.	PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE VALPARAISO – FACULTAD DE AGRONOMIA
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor.	
CARGO O ACTIVIDAD	Estudiante de Agronomía
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja.	

Nº 6

NOMBRE	Ananías Miguel
APELLIDO PATERNO	Saieg
APELLIDO MATERNO	Alcazar
RUT PERSONA NATURAL	
DIRECCION	6 Oriente 340 (5) Depto. 403 Viña del Mar – V Región.
FONO-FAX	9-3586750
E-MAIL	nano@terra.cl
Nombre de la organización, empresa o institución de donde trabaja / Nombre del	

predio o de la sociedad en caso de ser productor.	
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor.	
CARGO O ACTIVIDAD	Asesorías
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja.	Alimentos

Nº 7

NOMBRE	Sebastián
APELLIDO PATERNO	Arteaga
APELLIDO MATERNO	Méndez
RUT PERSONA NATURAL	
DIRECCION	Av. Santa María 6560 depto. 205 Vitacura Santiago – Región Metropolitana
FONO-FAX	
E-MAIL	rearmen@yahoo.es
Nombre de la organización, empresa o institución de donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor.	FUNDACION CHILE Y EMPRESA EN FORMACION.
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor.	
CARGO O ACTIVIDAD	
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja.	Agroindustria

Nº 8

NOMBRE	Paula
APELLIDO PATERNO	Soto
APELLIDO MATERNO	Azócar
RUT PERSONA NATURAL	
DIRECCION	Avenida Altamirano 1480, Valparaíso, V Región.
FONO-FAX	32-274263
E-MAIL	paula.soto@ucv.cl
Nombre de la organización, empresa o institución de donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor.	PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE VALPARAISO
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor.	81.669.200-8
CARGO O ACTIVIDAD	Investigación
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja.	Acuicola

Nº 9

NOMBRE	Germán
APELLIDO PATERNO	Olivares
APELLIDO MATERNO	Cantillano
RUT PERSONA NATURAL	
DIRECCION	Valparaíso – V Región

FONO-FAX	32-274263
E-MAIL	german.olivares@ucv.cl
Nombre de la organización, empresa o institución de donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor.	PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE VALPARAISO
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor.	81.669.200-8
CARGO O ACTIVIDAD	Investigación
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja.	Acuícola

Nº10

NOMBRE	Juan Elicer
APELLIDO PATERNO	Paillomi
APELLIDO MATERNO	Guzmán
RUT PERSONA NATURAL	
DIRECCION	Km. 12 Villarica – Lican Ray
FONO-FAX	09-4471693
E-MAIL	Juan_paillomi@hotmail.com
Nombre de la organización, empresa o institución de donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor.	SOCIEDAD DE AGRICULTORES HUOLOPULLI
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor.	77.671.690-1
CARGO O ACTIVIDAD	Representante Legal
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja.	Productor de Aceite Esencial (IFA)

Nº 11

NOMBRE	Miguel Angel
APELLIDO PATERNO	Orellana
APELLIDO MATERNO	Rodríguez
RUT PERSONA NATURAL	
DIRECCION	Balmaceda 0126 El Bosqu
FONO-FAX	5274463
E-MAIL	
Nombre de la organización, empresa o institución de donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor.	MACROFOOD
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor.	
CARGO O ACTIVIDAD	Analista Lab. Inv. y Desarrollo
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja.	Analista

Nº12

NOMBRE	María Eugenia
APELLIDO PATERNO	Letelier
APELLIDO MATERNO	Muñoz

RUT PERSONA NATURAL	
DIRECCION	Olivos 1007 – Independencia
FONO-FAX	Fono 6782885 – Fax 7378920
E-MAIL	mal@liq.uchile.cl
Nombre de la organización, empresa o institución de donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor.	UNIVERSIDAD DE CHILE FACULTAD DE CIENCIAS QCAS Y FARMACEUTICA
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor.	
CARGO O ACTIVIDAD	Académico
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja.	Farmacología

Nº13

NOMBRE	Felipe
APELLIDO PATERNO	Troncoso
APELLIDO MATERNO	Polgatti
RUT PERSONA NATURAL	
DIRECCION	Arzobispo Vicuña 51 Depto. 11
FONO-FAX	223-0742
E-MAIL	feltro@qtdmail.com
Nombre de la organización, empresa o institución de donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor.	PARTICULAR
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor.	
CARGO O ACTIVIDAD	Ingeniero de Alimentos
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja.	Alimentos

Nº14

NOMBRE	María Isabel
APELLIDO PATERNO	Toledo
APELLIDO MATERNO	Donoso
RUT PERSONA NATURAL	
DIRECCION	Av. Altamirano 1480 V Región
FONO-FAX	274263
E-MAIL	itoledo@ucv.cl
Nombre de la organización, empresa o institución de donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor.	PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE VALPARAISO
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor.	
CARGO O ACTIVIDAD	Docente Investigador
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja.	Alimentación Acuícola

N°15

NOMBRE	Susana
APELLIDO PATERNO	Laguna
APELLIDO MATERNO	
RUT PERSONA NATURAL	
DIRECCION	
FONO-FAX	Fono 3232137 Fax 3232137
E-MAIL	tutilaguna@hotmail.com
Nombre de la organización, empresa o institución de donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor.	Empresa Familiar – Recién comenzando.
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor.	
CARGO O ACTIVIDAD	Médico Veterinario
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja.	Alimentación en Animales

N°16

NOMBRE	Carlos
APELLIDO PATERNO	Coros
APELLIDO MATERNO	Villca
RUT PERSONA NATURAL	
DIRECCION	Condominio Los Alamos Casa39 Los Andes V Región
FONO-FAX	402923-904116
E-MAIL	ccorosv@hotmail.com
Nombre de la organización, empresa o institución de donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor.	CLINICA RIO BLANCO P. UNIVERSIDAD CATOLICA DE VALPARAISO
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor.	
CARGO O ACTIVIDAD	Kinesiologo
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja.	

N°17

NOMBRE	Loreto
APELLIDO PATERNO	Hernández
APELLIDO MATERNO	Ríos
RUT PERSONA NATURAL	
DIRECCION	8 norte 772 depto 1001 Viña del Mar, V Región.
FONO-FAX	32-683534 / 092777034
E-MAIL	loretohr@hotmail.com
Nombre de la organización, empresa o institución de donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor.	P. UNVIERSIDAD CATOLICA DE VALPARAISO
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor.	

CARGO O ACTIVIDAD	Estudiante
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja.	Facultad de Agronomía

N°18

NOMBRE	Carmen Gloria
APELLIDO PATERNO	Rodríguez
APELLIDO MATERNO	Rojas
RUT PERSONA NATURAL	
DIRECCION	Volcan Licancabur 819 Rancagua
FONO-FAX	72-698930
E-MAIL	Carmen_rodriguez@123mail.cl
Nombre de la organización, empresa o institución de donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor.	
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor.	
CARGO O ACTIVIDAD	
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja.	

N°19

NOMBRE	Carlos
APELLIDO PATERNO	Inostrosa
APELLIDO MATERNO	Bonnet
RUT PERSONA NATURAL	
DIRECCION	Ruiz de Gamboa 048-Providencia-Santiago-Región Metropolitana
FONO-FAX	7776216
E-MAIL	busintaal@gmail.cl
Nombre de la organización, empresa o institución de donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor.	BUSINTAAL LTDA.
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor.	79.778.260-2
CARGO O ACTIVIDAD	Gerente General
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja.	Insumos Industriales

N° 20

NOMBRE	Germán
APELLIDO PATERNO	Gomez
APELLIDO MATERNO	Pinto
RUT PERSONA NATURAL	
DIRECCION	Malaga 115 local2
FONO-FAX	2071503 /2280967
E-MAIL	hergotar@hotmail.com
Nombre de la organización, empresa o	

institución de donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor.	HERGOTAR S.A.
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor.	78.621.070-4
CARGO O ACTIVIDAD	Director Técnico
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja.	Farmacia, Recetario Magistral, Dermatología.

Nº 21

NOMBRE	Sebastián
APELLIDO PATERNO	Acuña
APELLIDO MATERNO	Verrugjo
RUT PERSONA NATURAL	
DIRECCION	Amado Nervo 155 La Reina Santiago Región Metropolitana
FONO-FAX	2-3252447
E-MAIL	sebastianaav@walla.com
Nombre de la organización, empresa o institución de donde trabaja / Nombre del predio o de la sociedad en caso de ser productor.	
RUT de la organización, empresa o institución donde trabaja / RUT de la sociedad agrícola o predio en caso de ser agricultor.	
CARGO O ACTIVIDAD	Ingeniero en Alimentos
Rubro, área o sector a la cual se vincula o en la que trabaja.	Consultor Técnica

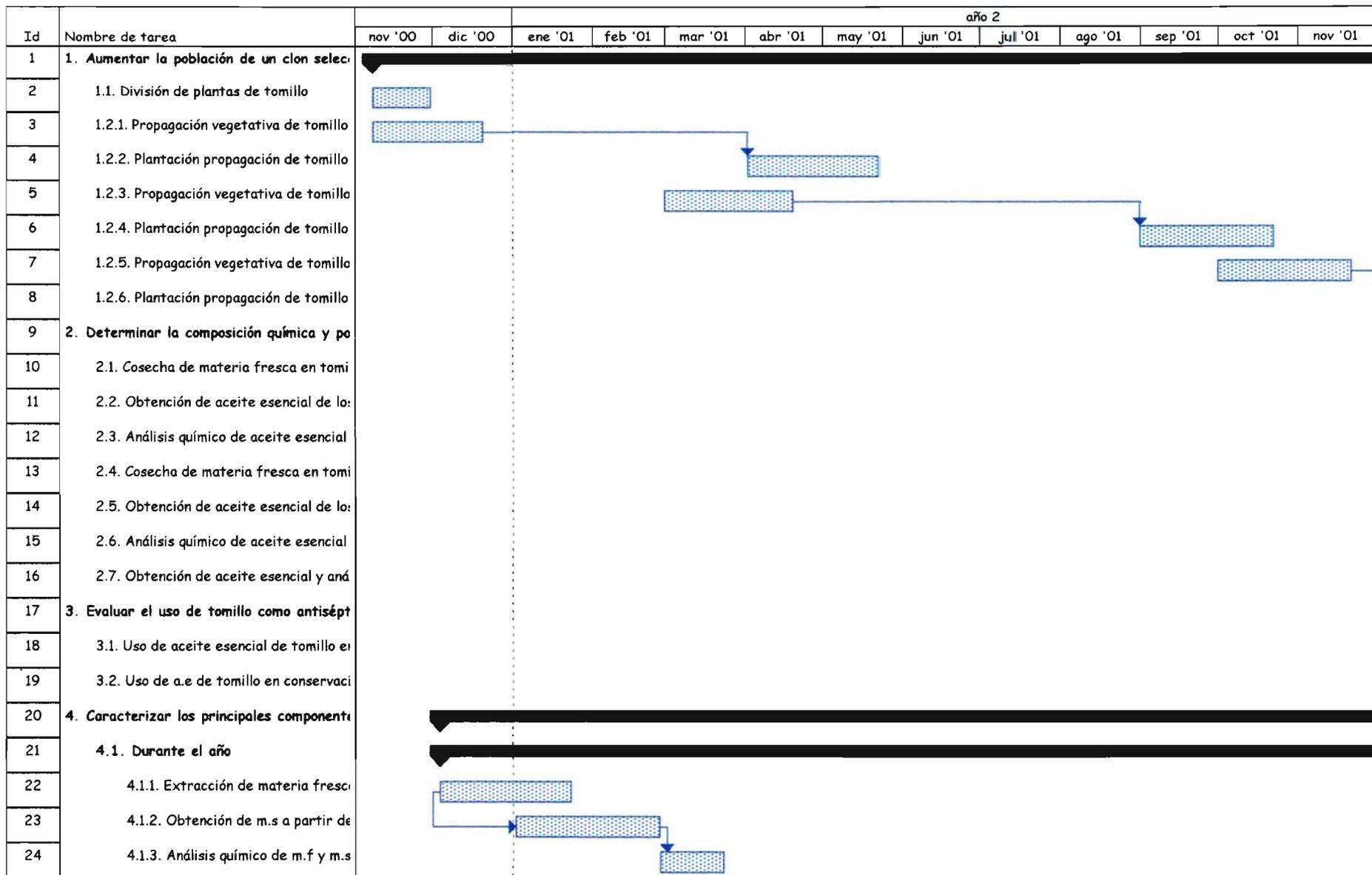
ANEXO 8
Laboratorios CANALAB

Laboratorio	Email	Fax	Fono	Contacto
Lab. Prater	ebrunol@labprater.cl	5574336	8707500	J.Dgo. Maldonado
Lab. Ximena Polanco	ximenapolanco@xpolanco.com	5515336	5515336	Ximena Polanco Dresden 4640
lab. Knop	mrojas@knop.cl	32/941962	32/942183	Marcelo Rojas Av. Industrial 1198 Quilpué
Lab.Pharma Group	pperez@pharmagroup.cl	5571240	5571123	Roberto Muenzer C.Melipilla 6873 Cerrillos
Lab.Pasteur	avega@lpasteur.cl	2384260	2394090	Adrián Vega
	lgonzalez@lpasteur.cl			
Lab.y Droguería Nac.	labnaciona@tie.cl	6238455	6232411	Rodrigo Barrios Calle Nueva 5374 Conchalí
	gerenciacomercial_idn@hotmail.com			
Condecap	condecap@ctcreuna.cl	6261954	6252517	Teresa Ramelli Alb.Riesco 0245 Huechuraba
Lab.Hochstetter	jparedes@hahnemannn@entelchile.net	7778495	7771284	Susana Hochstetter
				Luis Antonio
Lab.Ecifarma	gerencia@ecifarma.cl	3417247	2097177	Fernández Dardinag 06 Prov.
	l.a.fernandez@ecifarma.cl			
Lab Valma	virginia_valma@123.cl	7739572	7735732	Virginia Araneda Miguel de Atero 2883
	mvernal@valma.cl			
Lab.Weleda	bam@weleda.cl	3333225	2319078	Bernardo Amthauer Simón Bolívar 4188
Secretaria Monica		3351384		
Lab. Heel	Bbotikaheel@entelchile.net	6347813	3354775	Paula Rivas

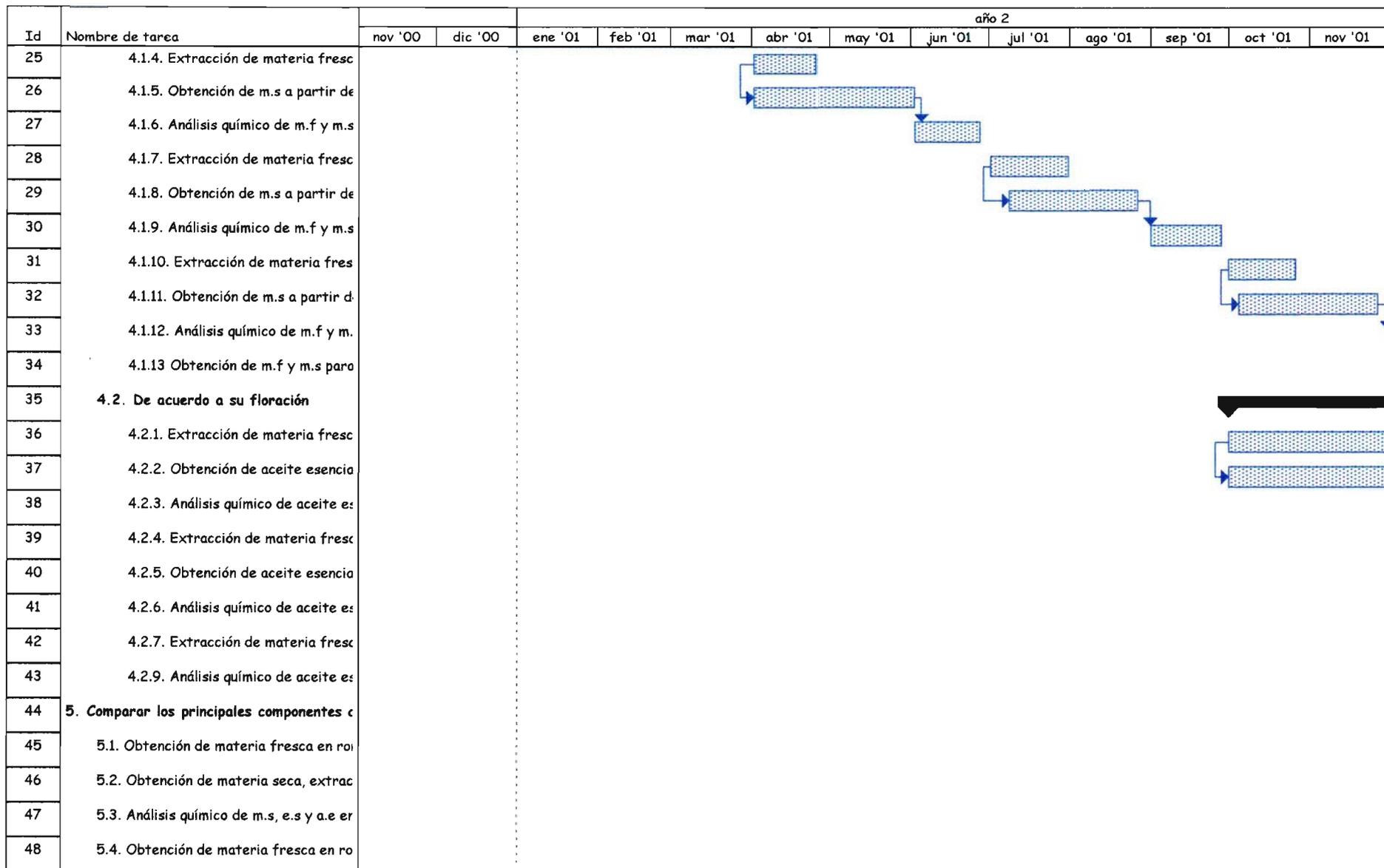
Anexo 9. Calendario de ejecución

Calendario de Ejecución 1º Parte: Noviembre 2000 – Mayo 2003

Calendario de Ejecución 2º Parte: Junio 2003 – Marzo 2005

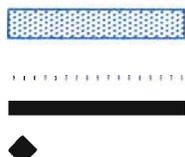


Carolina Fredes Proyecto: C-00-1-A-071 Inicio 8 de Noviembre de 2000	Tarea		Resumen		Progreso resumido	
	División		Tarea resumida		Tareas externas	
	Progreso		División resumida		Resumen del proyecto	
	Hito		Hito resumido			

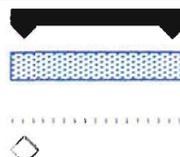


Carolina Fredes
 Proyecto: C-00-1-A-071
 Inicio 8 de Noviembre de 2000

Tarea
 División
 Progreso
 Hito



Resumen
 Tarea resumida
 División resumida
 Hito resumido



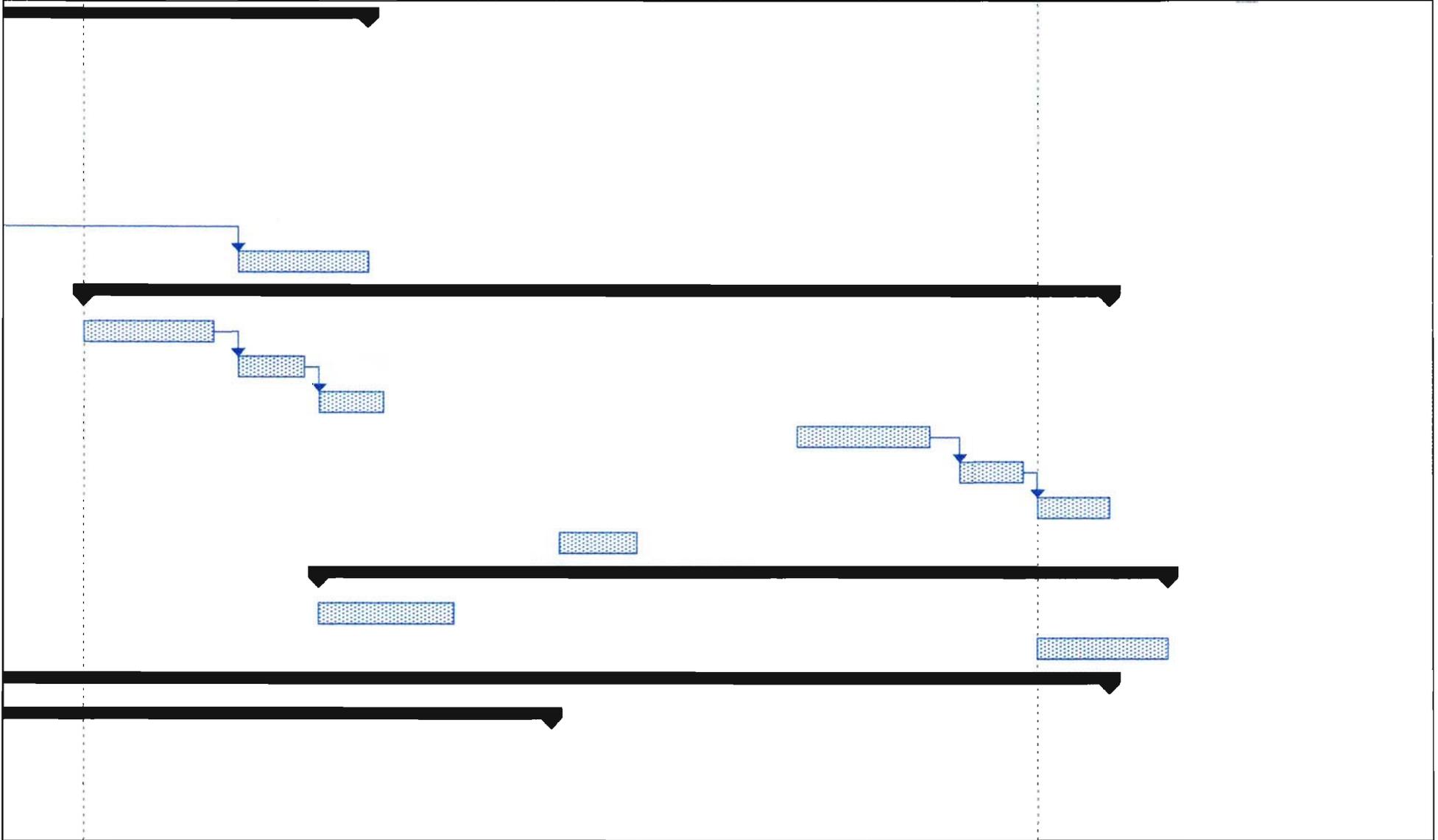
Progreso resumido
 Tareas externas
 Resumen del proyecto



Id	Nombre de tarea	año 2												
		nov '00	dic '00	ene '01	feb '01	mar '01	abr '01	may '01	jun '01	jul '01	ago '01	sep '01	oct '01	nov '01
49	5.5. Obtención de m.s, e.s y a.e en romero													
50	5.6. Análisis químico de m.s, e.s y a.e en romero													
51	5.7. Obtención de materia fresca en romero													
52	5.8. Obtención de m.s, e.s y a.e en romero													
53	5.9. Análisis químico de m.s, e.s y a.e en romero													
54	5.10. Obtención de materia fresca en romero													
55	5.11. Obtención de m.s, e.s y a.e en romero													
56	5.12. Análisis químico de m.s, e.s y a.e en romero													
57	6. Evaluar el uso de romero como antioxidante													
58	6.1. Uso de m.s y e.s de romero en postcosecha													
59	6.2. Uso de m.s y e.s de romero en conservación													
60	6.3. Uso de a.e de romero en postcosecha													
61	6.4. Uso de a.e de romero en conservación													
62	7. Evaluar el comportamiento del cultivo de romero													
63	7.1. Acondicionamiento parcela experimental													
64	7.2. Establecimiento cultivo de romero													
65	7.3. Obtención de m.f y m.s para análisis													
66	7.4. Obtención de m.f y m.s para análisis													
67	8. Elaborar Estudio de Mercado de Usos de Romero													
68	8.1. Estudio de Mercado													
69	9. Difusión a Empresas													
70	9.1. Actividades de Difusión con empresas													
71	9.2. Actividades de Difusión con empresas													

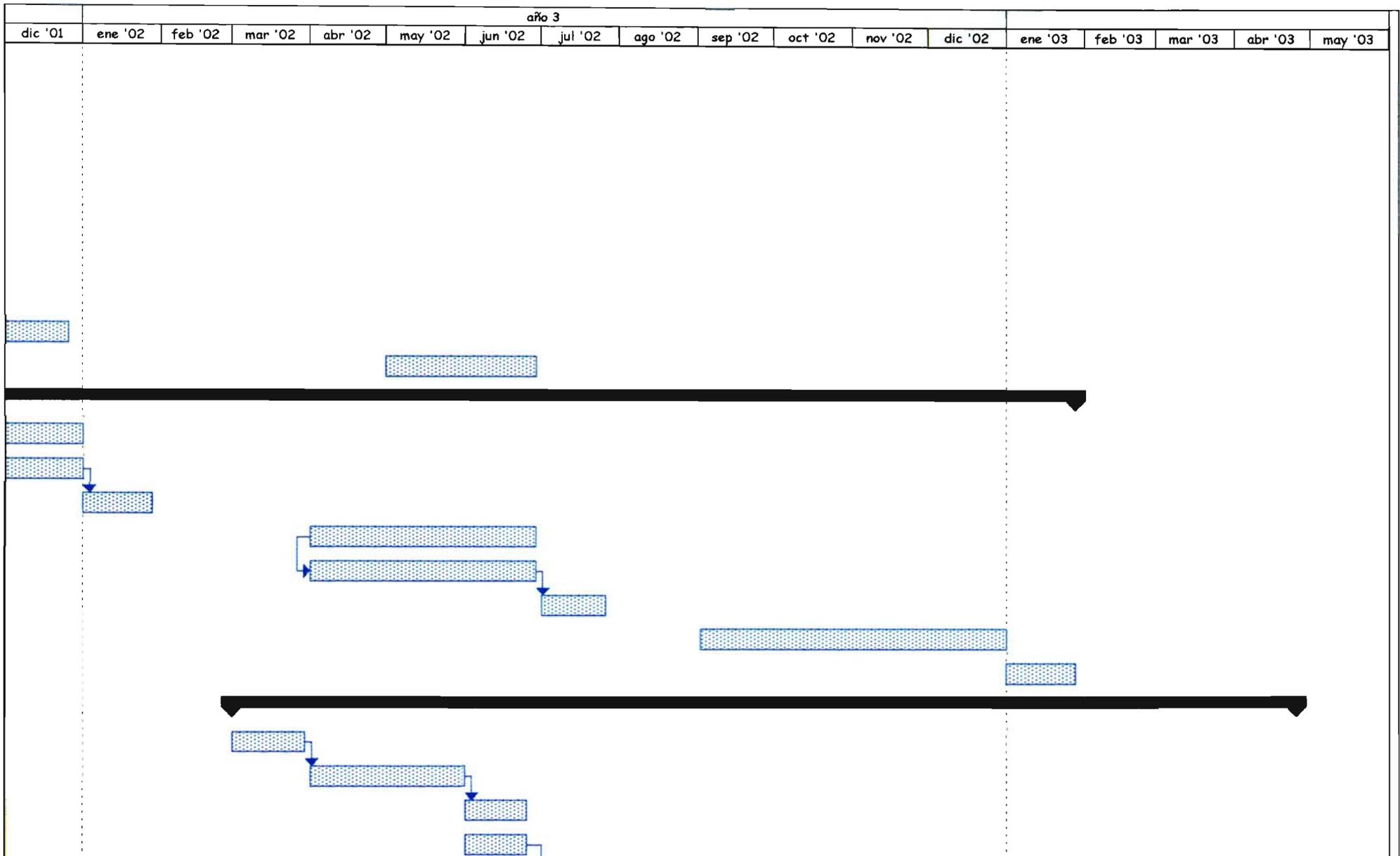
Carolina Fredes Proyecto: C-00-1-A-071 Inicio 8 de Noviembre de 2000	Tarea		Resumen		Progreso resumido	
	División		Tarea resumida		Tareas externas	
	Progreso		División resumida		Resumen del proyecto	
	Hito		Hito resumido			

dic '01 ene '02 feb '02 mar '02 abr '02 may '02 jun '02 jul '02 ago '02 sep '02 oct '02 nov '02 dic '02 ene '03 feb '03 mar '03 abr '03 may '03

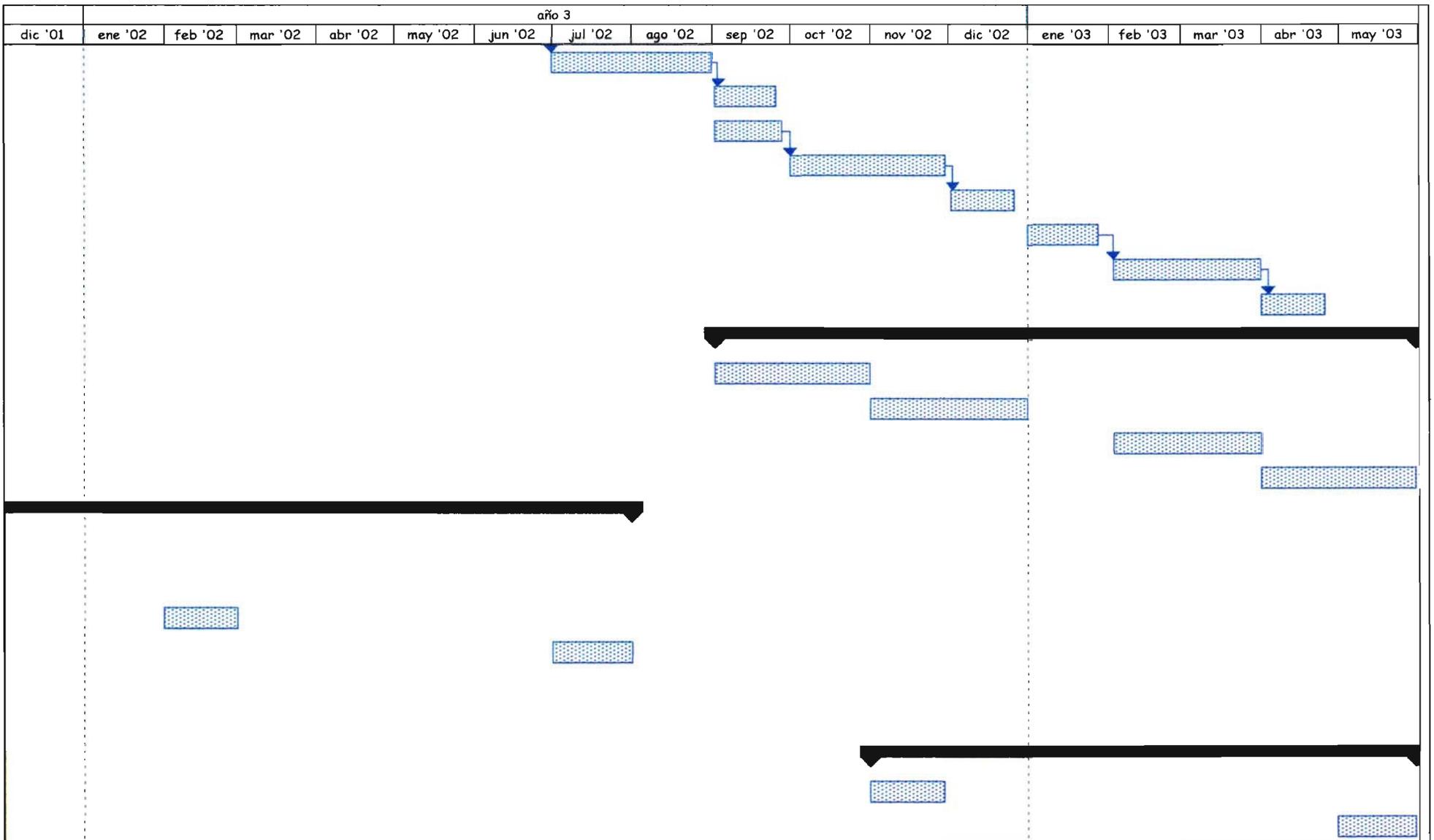


Carolina Fredes
 Proyecto: C-00-1-A-071
 Inicio 8 de Noviembre de 2000

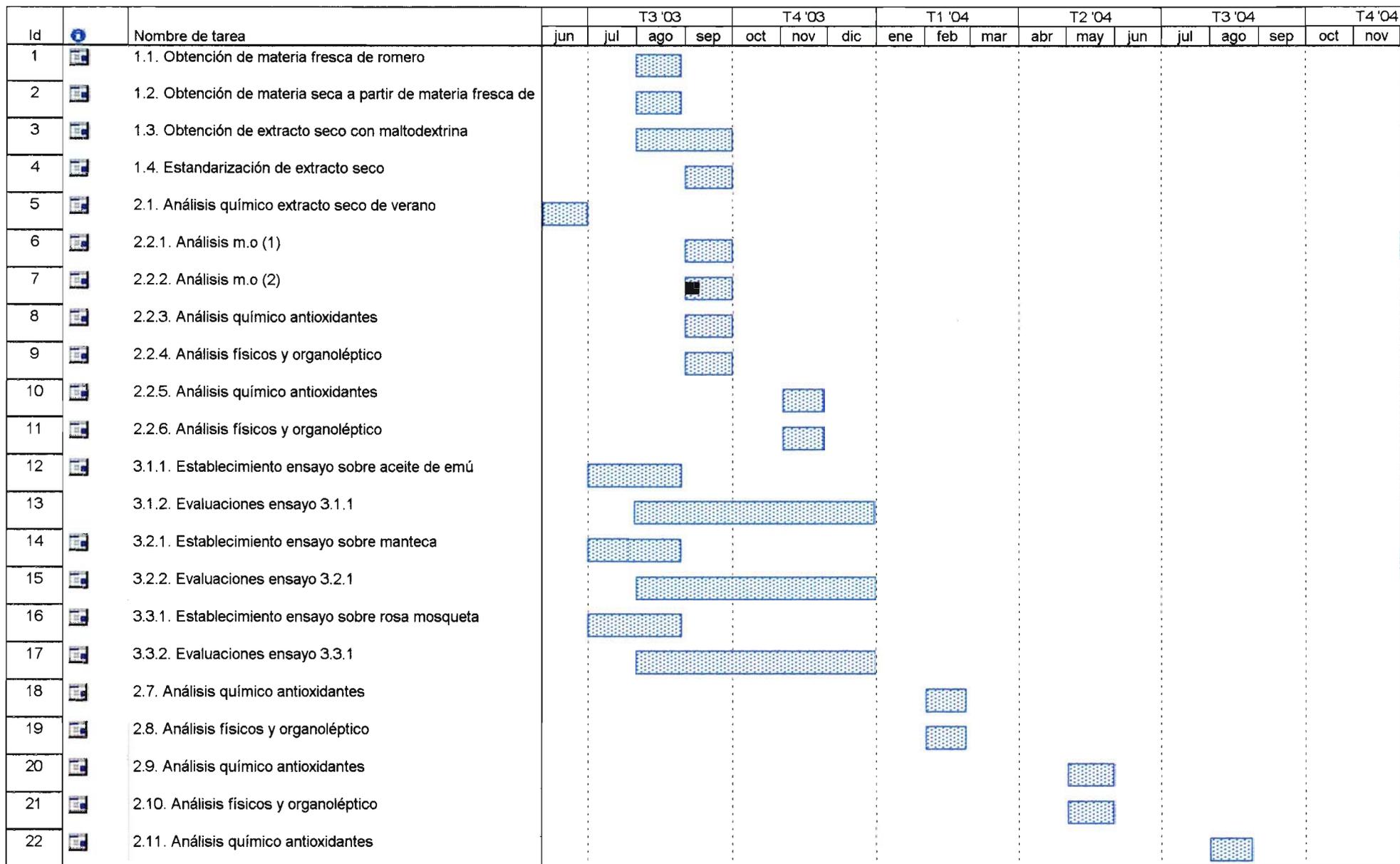
Tarea		Resumen		Progreso resumido	
División		Tarea resumida		Tareas externas	
Progreso		División resumida		Resumen del proyecto	
Hito		Hito resumido			



Carolina Fredes Proyecto: C-00-1-A-071 Inicio 8 de Noviembre de 2000	Tarea		Resumen		Progreso resumido	
	División		Tarea resumida		Tareas externas	
	Progreso		División resumida		Resumen del proyecto	
	Hito		Hito resumido			



Carolina Fredes Proyecto: C-00-1-A-071 Inicio 8 de Noviembre de 2000	Tarea		Resumen		Progreso resumido	
	División		Tarea resumida		Tareas externas	
	Progreso		División resumida		Resumen del proyecto	
	Hito		Hito resumido			



Proyecto: Carta Gantt Prolongación
Fecha: mi 20-04-05

Tarea 

División 

Progreso 

Hito 

Resumen 

Tarea resumida 

División resumida 

Hito resumido 

Progreso resumido 

Tareas externas 

Resumen del proyecto 

Id	Nombre de tarea	T3 '03				T4 '03			T1 '04			T2 '04			T3 '04			T4 '04	
		jun	jul	ago	sep	oct	nov	dic	ene	feb	mar	abr	may	jun	jul	ago	sep	oct	nov
23	2.12. Análisis físicos y organoléptico																		
24	2.13. Análisis químico antioxidantes																		
25	2.14. Análisis físicos y organoléptico																		

Proyecto: Carta Gantt Prolongación Fecha: mi 20-04-05	Tarea		Resumen		Progreso resumido	
	División		Tarea resumida		Tareas externas	
	Progreso		División resumida		Resumen del proyecto	
	Hito		Hito resumido			

Id	Nombre de tarea	T4 '04		T1 '05			T2 '05			T3 '05			T4 '05			T1 '06			T2 '06	
		nov	dic	ene	feb	mar	abr	may	jun	jul	ago	sep	oct	nov	dic	ene	feb	mar	abr	may
1	1.1. Obtención de materia fresca de romero																			
2	1.2. Obtención de materia seca a partir de materia fresca de																			
3	1.3. Obtención de extracto seco con maltodextrina																			
4	1.4. Estandarización de extracto seco																			
5	2.1. Análisis químico extracto seco de verano																			
6	2.2.1. Análisis m.o (1)																			
7	2.2.2. Análisis m.o (2)																			
8	2.2.3. Análisis químico antioxidantes																			
9	2.2.4. Análisis físicos y organoléptico																			
10	2.2.5. Análisis químico antioxidantes																			
11	2.2.6. Análisis físicos y organoléptico																			
12	3.1.1. Establecimiento ensayo sobre aceite de emú																			
13	3.1.2. Evaluaciones ensayo 3.1.1																			
14	3.2.1. Establecimiento ensayo sobre manteca																			
15	3.2.2. Evaluaciones ensayo 3.2.1																			
16	3.3.1. Establecimiento ensayo sobre rosa mosqueta																			
17	3.3.2. Evaluaciones ensayo 3.3.1																			
18	2.7. Análisis químico antioxidantes																			
19	2.8. Análisis físicos y organoléptico																			
20	2.9. Análisis químico antioxidantes																			
21	2.10. Análisis físicos y organoléptico																			
22	2.11. Análisis químico antioxidantes																			

Proyecto: Carta Gantt Prolongación Fecha: mi 20-04-05	Tarea		Resumen		Progreso resumido	
	División		Tarea resumida		Tareas externas	
	Progreso		División resumida		Resumen del proyecto	
	Hito		Hito resumido			

Id	Nombre de tarea	T4 '04		T1 '05			T2 '05			T3 '05			T4 '05			T1 '06			T2 '06	
		nov	dic	ene	feb	mar	abr	may	jun	jul	ago	sep	oct	nov	dic	ene	feb	mar	abr	may
23	2.12. Análisis físicos y organoléptico																			
24	2.13. Análisis químico antioxidantes																			
25	2.14. Análisis físicos y organoléptico																			

Proyecto: Carta Gantt Prolongación
Fecha: mi 20-04-05

Tarea



Resumen



Progreso resumido



División



Tarea resumida



Tareas externas



Progreso



División resumida



Resumen del proyecto



Hito



Hito resumido

